UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1957 - N° 399

LE TRAITEMENT
de la
MONILIASE INTESTINALE DU COBAYE
provoquée par les antibiotiques

Travail effectué au Laboratoire du Service de Gynécologie
de l'Hôpital Saint-André (Professeur Magendie)
et au Laboratoire de Matière Médicale de la Faculté de Médecine
et de Pharmacie de Bordeaux (Professeur Masquelier)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement le mardi 30 juillet 1957

PAR

Jean BEUSTES

né le 6 juillet 1932, à Pau (Basses-Pyrénées)

Examinateurs de la Thèse : MM. MASQUELIER, Professeur, Président.
MAGENDIE, Professeur.
PAUTRIZEL, Professeur.
CAZAUX, Professeur.
— Juges

BORDEAUX

UNION FRANÇAISE D'IMPRESSION
185, Cours de la Marne

1957

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543917_0045

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1957 - N° 399

LE TRAITEMENT

de la

MONILIASE INTESTINALE DU COBAYE

provoquée par les antibiotiques

Travail effectué au Laboratoire du Service de Gynécologie
de l'Hôpital Saint-André (Professeur Magendie)
et au Laboratoire de Matière Médicale de la Faculté de Médecine
et de Pharmacie de Bordeaux (Professeur Masquelier)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement le mardi 30 juillet 1957

PAR

Jean BEUSTES

né le 6 juillet 1932, à Pau (Basses-Pyrénées)

Examinateurs de la Thèse : MM. MASQUELIER, Professeur, Président.
MAGENDIE, Professeur.
PAUTRIZEL, Professeur.
CAZAUX, Professeur.
— Juges

BORDEAUX

UNION FRANÇAISE D'IMPRESSION
185, Cours de la Marne

1957

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPERIÉ, CHELLE, G. PORTMANN

DOYEN : M. SIGALAS. — **ASSESSEUR** : M. TAYEAU

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. A. MANDOUL, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, CHARRIER, DUBREUIL, CRUCHET, PERRENS, BEAUVIEUX, CREYX, MAURIAC, BONNIN, GOLSE

PROFESSEURS

	MM.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	G. PORTMANN
Clinique chirurgicale	F. PAPIN
Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS
Clinique médicale et des maladies infectieuses	E. AUBERTIN
Clinique odonto-stomatologique	X. J. DUBECQ
Pharmacie	G. VITTE
Physiologie	R. FABRE
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	C. JOULIA
Clinique d'accouchements	M. RIVIERE
Clinique médicale	R. de GRAILLY
Clinique des maladies des voies urinaires	R. DARGET
Médecine légale et médecine du travail	P. DERVILLEE
Clinique médicale des maladies des enfants	A. FONTAN
Hygiène et Clinique de la tuberculose	F. PIECHAUD
Physique médicale et pharmaceutique	C. PIFFAULT
Toxicologie et hygiène appliquée	R. CASTAGNOU
Electroradiologie et Clinique d'électricité médicale	J. REBOUL
Clinique chirurgicale	L. MASSE
Botanique et cryptogamie	R. GIRARD
Chimie	P. MESNARD
Anatomie	R. DUFOUR
Clinique médicale	P. BROUSTET
Clinique gynécologique	J. MAGENDIE
Chimie biologique et médicale	F. TAYEAU
Anatomie générale et histologie	G. MAYER
Physique pharmac. (T.P.)	P. BLANQUET
Pathologie générale et expérimentale	R. SARIC
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	L. POUYANNE
Hydrologie thérapeut. et climatologie	J.-J. DUBARRY
Thérapeutique	F.-J. TRAISSAC
Immunologie (T. P.)	R. PAUTRIZEL
Bactériologie	MOUSTARDIER
Carcinologie	A. LACHAPELE
Clinique ophtalmologique	E. BESSIERE
Anatomie pathologique et microscopie clinique	H. LEGER
Matière médicale	MASQUELIER
Médecine et hygiène tropicales et Clinique des maladies exotiques	G. MORETTI

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. MAHON (Obstétrique),
Mlle ROUGIER (Physiologie), M. CAZAUX (Pharmacie, 3e section)
MM. LAUMONIER (Médecine opératoire) ; DESPONS (Oto-rhino-laryngologie).

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS

	MM.
Pharmacie (1re section)	R. GOLSE
Anatomie	F. RIGAUD
Biochimie médicale	E. NEUZIL
Pathologie expérimentale	J. FAURE
Pharmacie (2e section)	R. QUILICHINI
Histologie	R. STOLL
Anatomie	H. CABANIE
Physique médicale	J. DUHAMEL
Pharmacie (1re section)	P. ROMAIN

CHARGÉS DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

MM. J. MARQUEVIELLE (Biochimie médicale) ; J. BIRABEN (Anatomie pathologique)

AGRÉGÉS EN EXERCICE

	MM.
Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
Médecine générale	BERGOUIGNAN
Médecine générale	J. LANG-LEVY
Chirurgie générale	J. CHAVANNAZ
Pédiatrie et puériculture	P. VERGER
Urologie	J. LANGE
Obstétrique	CHASTRUSSE
Médecine légale et médecine du travail	P. L'EPEE
Chirurgie générale	J. VILLAR
Chirurgie générale	R. TINGAUD
Chirurgie générale	DEPAULIS
Médecine générale	LAVIGNOLLE
Obstétrique	G. FAUGERE
Odonto-stomatologie	P. BENOIT
Médecine générale	MARTIN-DUPONT
Médecine générale	DAVID-CHAUSSE
Médecine générale	J. RIVIERE
Chirurgie générale	DARMAILLACQ
Ophtalmologie	L. CORCELLE
Oto-rhino-laryngologie	M. PORTMANN
Pneumo-phtisiologie	P. FREOUR
Neurologie et psychiatrie	M. BLANC

COURS COMPLÉMENTAIRES

	MM.
Obstétrique sociale	MAHON
Médecine opératoire	LAUMONIER
Oto-rhino-laryngologie	DESPONS
Accouchements	CHASTRUSSE / FAUGERE
Puériculture	VERGER / PERY
Législation pharmaceutique	COUSTAU
Cryptogamie	LAUBIE
Organographie et physiologie végétale	TEMPERE
Chimie biologique	NIVET
Chimie analytique	BABIN
Pathologie chirurgicale	VILLAR / CHAVANNAZ / TINGAUD / LAPORTE
Zoologie pharmaceutique	BAILENGER
Physiologie	Mme LINQUETTE
Toxicologie et Hygiène	Mlle LARCEBAU
Phytopharmacie	CORTESI
Droit médical international	AUBY
Médecine légale	L'EPEE
Séméiologie médicale	J. RIVIERE
Séméiologie chirurgicale	DEPAULIS
Bactériologie	DULONG DE ROSNAY
Embryologie	STOLL
Pathologie médicale	BERGOUIGNAN / LENG-LEVY / LAVIGNOLLE

Le Secrétaire principal de la Faculté : GAYRAUD

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

AVANT-PROPOS

C'est pour nous un agréable devoir, au début de cet exposé, d'exprimer toute notre gratitude et tous nos remerciements à ceux de nos Professeurs qui nous ont manifesté leur intérêt à l'occasion de notre thèse ou pendant nos études.

M. le Professeur MAGENDIE a bien voulu nous accorder l'hospitalité de son laboratoire. Depuis lors, il n'a jamais cessé de s'intéresser à notre travail et de nous prodiguer ses encouragements. Qu'il veuille bien agréer l'expression de notre très respectueuse reconnaissance.

Nous prions M. le Professeur PAUTRIZEL de bien vouloir accepter nos très sincères remerciements pour l'amabilité jamais en défaut de son accueil et pour le bénéfice que nous avons retiré de l'enseignement qu'il nous a prodigué au cours de nos études.

M. le Professeur CAZAUX a aimablement accepté de siéger dans notre jury de thèse. L'intérêt constant que nous avons pris à son enseignement, nous rend plus sensible à l'honneur qu'il nous fait. Nous le prions de trouver ici l'expression de nos respectueux sentiments.

M. le Professeur MASQUELIER qui nous a confié ce travail, a fait preuve à notre égard d'une compréhension et d'une sollicitude sans borne. Après nous avoir accueilli dans son laboratoire, il nous a guidé pas à pas dans nos recherches, nous

faisant profiter à tout instant de son expérience, de ses conseils et de sa grande culture scientifique.

Nous sommes très sensible, aujourd'hui, au grand honneur qu'il nous fait en acceptant de présider notre jury de thèse. Les paroles ne sont pas à même d'exprimer notre pensée pour lui témoigner notre très profonde reconnaissance.

M. le Doyen SIGALAS, dès notre arrivée à la Faculté, a bien voulu s'intéresser à nous. Son amabilité à notre égard ne s'est jamais démentie. Le prix d'une telle bienveillance ne nous échappe pas et c'est avec une respectueuse insistance que nous le prions de croire à notre très profonde gratitude.

INTRODUCTION

Le rôle important joué dans notre intestin par la flore microbienne n'est plus à démontrer. En dehors de rares hôtes nuisibles, la majorité de ces germes exerce une action favorable sur le transit intestinal et constitue une flore aussi riche que variée.

Toute perturbation apportée à l'équilibre harmonieux qui doit normalement régner entre ces micro-organismes entraîne des troubles plus ou moins graves. C'est ainsi que l'antibiothérapie a fait apparaître, ces temps derniers, une pathologie nouvelle, celle des surinfestations et des déséquilibres de la flore intestinale. La MONILIASE en constitue un des syndromes les plus graves. Siégeant à l'origine dans le tube digestif, habitat normal du Candida albicans sous forme de saprophyte, cette infection mycosique connaît, à l'heure actuelle, une recrudescence alarmante, et donne lieu à de nombreuses localisations secondaires.

Considérant que le point de départ habituel de ce parasitisme réside dans le tractus digestif, nous avons volontairement limité le cadre de nos recherches à l'étude des thérapeutiques modernes de la moniliase intestinale. Le traitement de cette infection revêt en effet un caractère d'urgence tout particulier, car c'est à partir de l'intestin que le C. albicans gagne ses autres points d'élection.

De nombreux antifongiques ont été récemment proposés en thérapeutique. Nous avons voulu, dans une première série d'expériences, étudier leur action sur les levures pathogènes apparues chez le cobaye traité par les antibiotiques.

Ensuite, il nous a semblé utile de préciser le rôle éventuel que les ferments lactiques peuvent jouer dans la prévention ou le traitement de telles infections.

Enfin, ayant reconnu l'action favorable de ces ferments, nous avons cherché à les associer à une thérapeutique purement antifongique.

HISTORIQUE

CHAPITRE PREMIER

LA MONILIASE INTESTINALE SECONDAIRE A L'ANTIBIOTHÉRAPIE

L'AGENT PATHOGENE

1) Etude cryptogamique :

Classé par LANGERON (47) parmi les champignons levuriformes ou Blastomycètes, Candida albicans appartient à la sous-famille des Mycotoruloïdées. DIDDENS et LODDER (22) proposent, pour les champignons levuriformes, la classification suivante :

1. Etats levuriformes de champignons filamenteux pouvant appartenir à tous les types (phycomycètes, ascomycètes, basidiomycètes).
2. Levures ascosporées.
3. Levures anascosporées.

Ces dernières se subdivisent elles-mêmes en trois familles :

Nectaromycétacées.

Rhodotorulacées

Torulopsidacées — Mycotoruloïdées → Candida

Torulopsidacées — Toruloïdées

Candida : albicans, brumpti, parapsilosis, guillermondi, tropicalis, pseudo-tropicalis, krusei

Le genre Candida renferme donc un assez grand nombre d'espèces, riches en synonymes, dont la caractérisation précise est affaire de spécialistes. D'un point de vue médical, seule l'espèce albicans (qui comporte elle-même 172 synonymes) semble présenter un intérêt certain, en raison de son pouvoir pathogène confirmé. Langeron et Vanbreuseghem (49) décrivent quatre variétés :

C. albicans,
C. triadis,
C. stellatoïdea,
C. truncata,

unifiées, en général, sous la dénomination C. albicans en mycologie médicale.

Caracteres d'identification :

La morphologie des Candida sur simple milieu d'isolement se montre trop variable pour permettre un diagnostic d'espèce. Ni la forme, ni la taille des divers éléments végétatifs ne sont spécifiques.

Le caractère essentiel, permettant l'identification de C. albicans, réside dans la production de kystes végétatifs de conservation ou chlamydospores. Ce sont des cellules sphériques, provenant de la condensation du cytoplasme d'un ou de plusieurs articles du mycélium. D'un diamètre variant de 7 à 20 μ, les chlamydospores présentent une paroi très épaisse dont le double contour apparaît nettement au microscope.

Chez C. albicans, les chlamydospores sont terminales, isolées ou en bouquets et portées par le protochlamydospore qui résulte d'une différenciation de l'article terminal.

Trois conditions, selon Kligman (45) s'avèrent favorables au développement des chlamydospores :

— un milieu de culture pauvre,
— une tension d'oxygène faible,
— une température peu élevée.

et de nombreuses techniques ont été récemment proposées. C'est ainsi que WELD (96) préconise l'emploi du milieu E.M.B. sous atmosphère de CO_2 (10 p. 100) en présence d'Auréomycine. TALICE (90), dès 1930, fut le premier à utiliser une infusion de pommes de terre et BENHAM (7) en 1931 conseille l'emploi d'une gélose à la farine de maïs. Selon VANBREUSEGHEM (93), le milieu de Benham se montre supérieur aux milieux à base de pomme de terre. Toutefois, l'addition de bile au milieu de pomme de terre-carotte permet à PAVLATOU et MARCELOU (73) d'obtenir, en moins de 24 heures, des chlamydospores.

C'est, du reste, le milieu recommandé actuellement par l'Institut Pasteur pour l'identification des Candida albicans. (Milieu P.C.B.).

Outre la recherche des chlamydospores, le diagnostic met en œuvre diverses techniques plus générales que nous décrirons plus loin en détail.

2) Rôle biologique :

Bien que le groupe C. albicans soit considéré actuellement comme le seul renfermant des agents pathogènes, ce microorganisme peut exister normalement à l'état de saprophyte avec des localisations diverses. Dans le tube digestif, SHARP (85) trouve C. albicans chez 3 p. 100 des sujets examinés, BENHAM (7) chez 18 p. 100 et SMITH (87) chez 33 p. 100; le mycélium semble donc pouvoir subsister dans l'intestin sans provoquer de troubles cliniquement observables. En ce qui concerne la cavité buccale, BOQUIEN et ALLIOT (11) indiquent le taux de 42 p. 100 de porteurs sains.

Les principales manifestations pathogènes du Candida albicans, auxquelles on a donné le nom de Moniliases, sont généralement classées d'après leur localisation. Mais, comme le fait remarquer TREGUER (92), il ne faut pas appeler « Moniliases » toutes les manifestations cliniques au cours desquelles on constate la présence de quelques levures. Il faut réserver ce vocable aux

affections s'accompagnant d'une prolifération excessive de la flore fongique, qui sort de son habitat normal et devient réellement pathogène. On observe alors, soit des moniliases cutanées (intertrigo, onyxis et périonyxis), soit des moniliases des muqueuses (muguet, perlèche, ano-rectite, vulvo-vaginite). La généralisation des lésions entraîne des formes exceptionnellement graves (moniliases pulmonaires, septicémiques, endocardites, etc...).

LA MONILIASE INTESTINALE

L'introduction récente, en thérapeutique, des antibiotiques à large champ d'activité ne s'est pas généralisée sans créer un certain nombre d'effets seconds, parmi lesquels la surinfection fongique se signale par sa fréquence et sa gravité. La Moniliase intestinale en constitue la manifestation clinique la plus banale, le Candida albicans étant, nous l'avons vu, un hôte fréquent de la cavité buccale et de l'intestin particulièrement réfractaire à ces antibiotiques. Foley et Winter (29) semblent être les premiers à signaler, en 1949, une recrudescence des infections fongiques à la suite du traitement par les antibiotiques. Par la suite, de nombreux auteurs constatent des faits analogues: Harris (35) accuse en premier lieu l'Auréomycine et la Terramycine, le Chloramphénicol, selon lui, se montrant moins dangereux. Jacob et Coll. (40), montrent que ces médicaments exercent leur action néfaste même lorsqu'ils sont administrés par voie intramusculaire ou intraveineuse : l'élimination par la salive et surtout par la bile perturbe indirectement la flore intestinale. Mac Vay et Sprunt (57), en 1951, s'aperçoivent que le C. albicans se rencontrait dans les selles de 63 p. 100 des sujets traités par les antibiotiques à large spectre d'action. Lipnick et Coll. (53), reprennent, l'année suivante, des expériences analogues et observent que cette prolifération peut atteindre 78 p. 100 des cas. En 1955, Huppert et Cazin

(39) étudient successivement de nombreux antibiotiques et constatent que l'Auréomycine, la Néomycine et la Bacitracine stimulent la croissance du C. albicans tandis que l'Erythromycine et la Magnamycine ne manifestent pas ce pouvoir.

1. - Manifestations cliniques :

La superinfection mycosique du tube digestif se manifeste de diverses façons :

On peut constater une pullulation du champignon dans la cavité buccale : le malade ressent une impression de sécheresse, de cuisson, au contact des aliments chauds. La lésion, partie du voile du palais, atteint ensuite la langue, les lèvres, les gencives qui prennent un aspect congestif, s'accompagnant parfois d'une éruption papulo-vésiculeuse. La muqueuse linguale acquiert une teinte noirâtre caractéristique.

La diffusion de l'agent pathogène peut, dans certains cas, gagner l'œsophage, provoquant une gêne à la déglutition, et, de là, atteindre l'estomac, puis l'intestin. Dans ce dernier cas, on observe l'émission de selles liquides assez riches en mucosités.

La lésion s'étend fréquemment hors des muqueuses et peut atteindre le périnée, la vulve, les plis inguinaux et le scrotum.

Signalons que la prolifération du C. albicans ne s'accompagne pas forcément d'un « muguet » caractéristique. En effet, le point de départ peut être intestinal et seul un examen microscopique des matières fécales permet de déceler le champignon pathogène.

En général, les troubles intestinaux régressent après cessation de l'antibiothérapie, si toutefois cette dernière n'a été que de courte durée.

En revanche, les complications sont à redouter lorsque les antibiotiques polyvalents ont été administrés de façon prolongée. L'agent pathogène ne se cantonne plus au tube digestif,

il pénètre dans les voies respiratoires, dans le système capillaire et veineux, dans l'appareil uro-génital, donnant lieu aux diverses manifestations cliniques que nous avons citées au début de ce chapitre : Moniliase pulmonaire, comme l'ont constaté Oblath et Coll. (70) puis Mozer et Coll. (67), moniliase urinaire [Womack et Coll. (98), Duchesnay (27), Albers (1)] septicopyohémies (Gausenitz et Coll.) (30), endocardites (Zimmerman) (101)et abcès métastatiques atteignant les organes les plus variés (Lelong et Coll.) (52). Il faut reconnaître cependant la rareté des moniliases généralisées, observées uniquement, comme le souligne Cornet (18), chez des individus ayant perdu complètement leurs réactions de défense.

Le diagnostic de la moniliase intestinale ne présente pas de difficultés lorsque les champignons prolifèrent abondamment ; la cavité buccale, la région ano-vulvaire, montrent des lésions macroscopiques faciles à déceler. L'examen microscopique direct permet d'identifier les cellules typiques du Candida. Mais, dans la majorité des cas, l'infestation est plus discrète : la flore mycosique des selles sera certes abondante, mais les éléments bactériens n'auront pas disparu, et le recours aux techniques de coproculture permettra seul d'affirmer le caractère pathogène des levures décelées à l'examen direct.

2. - Mode d'action des antibiotiques :

Pour expliquer l'extraordinaire facilité du développement des Candida dans le tube digestif des sujets absorbant un antibiotique à large spectre, un certain nombre d'hypothèses ont été proposées. Nous les passerons rapidement en revue.

a) Allergie medicamenteuse :

Les incidents ou accidents de la moniliase intestinale apparaissent souvent de façon paradoxale. On trouve, en effet, des sujets chez lesquels un envahissement de l'intestin par Candida albicans ne s'accompagne d'aucun trouble, alors qu'une infestation légère se traduit parfois par des lésions profondes des

muqueuses et même par un syndrome cholériforme mortel, comme l'ont montré Beemer et Coll. (5).

Bickel et Coll. (10) font observer que certaines réactions allergiques à l'Auréomycine, la Terramycine et la Chloromycétine survenant au niveau des muqueuses, surtout dans la cavité buccale et la région péri-anale, sont difficiles à séparer des manifestations de surinfection fongique. Ces réactions au niveau des muqueuses seraient à la fois plus fréquentes et plus graves que les accidents cutanés. Et l'on pourrait ainsi expliquer de façon satisfaisante les réactions paradoxales souvent constatées. Kligman (46) pense même que la prolifération du Candida puisse être, parfois, le fait de réactions allergiques à la maladie primitive pour laquelle l'antibiothérapie fut instituée.

De ces constatations, il faut retenir que les antibiotiques peuvent, par allergie médicamenteuse, créer des désordres simulant les lésions de la moniliase, le Candida albicans n'étant plus alors qu'un épiphénomène sans rôle pathogène certain.

b) Desequilibre myco-bacterien :

Le déséquilibre myco-bactérien secondaire au traitement par les antibiotiques est désormais de constatation courante. Il est facilement mis en évidence par l'étude relativement simple de la flore intestinale. Mais le mécanisme de ce déséquilibre est encore, à l'heure actuelle, fort discuté.

Stimulation directe :

Constatant la fréquence des infections fongiques après traitement par les antibiotiques administrés par voie buccale, un certain nombre d'auteurs émettent l'hypothèse que ces substances peuvent stimuler directement la croissance des Candida. C'est Foley et Winter (29) qui les premiers, pensèrent que les antibiotiques pouvaient exalter le développement et la virulence du Candida albicans. Certains essais, ceux de Moore (64), de Pappenfort (72) notamment, parurent confirmer cette

manière de voir, mais furent infirmés par d'autres auteurs qui, à l'exemple de KLIGMAN (46) ne constatèrent, in vitro, aucune action de ces antibiotiques sur le métabolisme du champignon. De même RIMBAUD et RIOUX (79), après avoir étudié l'action des antibiotiques sur la candidose spontanément curable du lapin, arrivent aux mêmes conclusions, ainsi que MARCELOU et SEGRETAIN (58) qui montrent, qu'in vitro, les antibiotiques à large spectre n'agissent pas sur la croissance du Candida. Mieux, LIPNICK et Coll. (53), METZGER et coll. (63) pensent que la croissance des Candida sur milieu synthétique n'est pas favorisée par l'Auréomycine, mais par le phosphore du phosphate bicalcique utilisé pour enrober les capsules. Enfin, BALEX (3) montre que l'addition d'antibiotiques sur milieu de Sabouraud, ne favorise par la pullulation des levures et n'accroît par leur virulence.

En résumé, s'il est démontré, in vitro, que ni l'Auréomycine, ni la Terramycine, ni la Chloromycétine ne stimulent la croissance du C. albicans, une divergence d'opinion règne encore en ce qui concerne l'action in vivo : Si KLIGMAN (46), par des expériences sur la souris, RIMBAUD et RIOUX (79) en travaillant sur le lapin, estiment que les antibiotiques ne favorisent en rien le développement des mycètes, d'autres auteurs, tels SELIGMANN (84), BOQUIEN et ALLIOT (11), STERNBERG et Coll. (89) pensent qu'ils interviennent plus ou moins directement et stimulent la prolifération du C. albicans dans le milieu intestinal.

Destruction d'un grand nombre de microorganismes :

L'observation journalière de sujets traités par les antibiotiques montre la disparition rapide d'une flore microbienne sensible, les microorganismes insensibles pouvant seuls subsister. On assiste alors au brusque développement de ces derniers, qui envahissent très vite une place laissée vacante. On peut, en effet, penser que, sous l'effet des traitements modernes, des souches de Candida albicans se sont peu à peu sélectionnées.

Il est logique d'admettre que le C. albicans représente une flore de substitution. En effet, les levures qui vivent habituellement sur nos muqueuses à l'état saprophyte et qui sont plus ou moins antagonistes des bactéries, envahissent les territoires dont les hôtes microbiens habituels ont été éliminés par l'administration d'antibiotiques.

De nombreux travaux étayent cette théorie : c'est ainsi que METZGER (61) enregistre dès les premières heures du traitement par l'Auréomycine, administrée « per os », une diminution globale de la population bactérienne. Il observe, simultanément, avec une rapidité d'autant plus grande que l'élimination des coliformes est plus complète, la multiplication ou l'apparition de diverses levures et champignons, notamment du C. albicans.

RENTCHNICK (78) fait des constatations semblables et pense que les antibiotiques à large spectre d'action, provoquant une stérilisation plus ou moins complète du tube digestif, établissent ainsi des conditions particulièrement favorables à la croissance du C. albicans. Celui-ci, en effet, ne se trouve pas dans le spectre d'activité des antibiotiques.

D'autre part, SELIGMANN (84), STERNBERG (89), BROWN (13), BICKEL (9), incriminent en premier lieu, en dehors de l'affaiblissement de la résistance de l'organisme malade, l'emploi intensif des antibiotiques à large spectre d'action. En supprimant la flore bactérienne intestinale, ces substances favorisent le développement de la flore mycologique normalement saprophyte.

MURATORE (69) remarque également que le C. albicans prolifère dans le tube digestif à la suite de la disparition d'une flore antagoniste. Pour lui, la moniliase ne résulte pas d'une exaltation directe de la virulence du germe en cause, mais plutôt d'une absence de défense de l'organisme permettant son développement anormal.

Dogliotti (23), de son côté, constate que les traitements antibiotiques ont déterminé une notable augmentation de certaines lésions des muqueuses présentant à leur surface une quantité variable de mycètes. Il estime que si les antibiotiques sont la cause de la prolifération des Candida, ils peuvent agir de deux façons : soit par stimulation directe, soit par suppression de la flore antagoniste.

Mais cette destruction de microorganismes sous l'influence des antibiotiques n'explique pas tous les phénomènes que nous pouvons constater au niveau de l'intestin où certaines espèces bactériennes disparaissent, bien qu'insensibles aux antibiotiques, provoquant ainsi une autre cause favorable au développement des Candida. Cela nous amène à étudier un autre facteur important qui vient compléter cette revue : il s'agit du problème des avitaminoses.

c) Avitaminoses :

— *Causes :*

L'infection intestinale par les levures pourrait être indirectement favorisée par une carence en vitamines B et notamment par l'ariboflavinose. Ainsi serait créé un état de moindre résistance aux levures, opinion soutenue en particulier par Harris (35), reprise par Tomaszewski (91), puis par Plichet (76). En effet, comme le font remarquer Boquien et Alliot (11), la synthèse des vitamines B est assurée par les colibacilles du milieu intestinal. La suppression de ces microorganismes a donc un retentissement profond sur la formation des vitamines B. De plus, chez un sujet traité, donc malade, d'autres facteurs amènent des carences de ce type : d'une part une diminution de l'apport alimentaire (diète), d'autre part, une réduction de l'absorption (diarrhées). Ainsi donc, l'avitaminose est due à une triple cause :

— carence de synthèse,

— carence d'apport extrinsèque,
— carence d'absorption.

Une autre cause, secondaire celle-là, est constituée par les exigences de la flore mycotique néoformée en vitamines B.

Nous observons alors, par suite de cette déficience en vitamines B, une dystrophie tissulaire avec, secondairement, envahissement des tissus par les C. albicans réfractaires aux antibiotiques.

Répercussion sur la flore :

Une partie de la flore intestinale est sensible aux carences vitaminiques. Brisou (12) donne à la vitamine B_2 une place prépondérante. Selon lui, la flore colique normale est formée d'espèces à pouvoir vitaminique et synthétique élevé et par conséquent indifférentes aux fluctuations du stock vitaminique extérieur. L'antibiotique absorbé va supprimer les germes directement sensibles. Parmi les survivants, se classent les espèces sensibles aux carences en vitamine B_2 et les espèces insensibles. La disparition des microorganismes à pouvoir vitaminosynthétique élevé a pour résultat la disparition des espèces sensibles aux carences quoique insensibles à l'antibiotique. Il ne reste plus, en définitive, dans la flore intestinale que les espèces insensibles tant à l'antibiotique qu'aux carences. C'est le cas du Candida albicans qui est insensible aux antibiotiques à large spectre, de même qu'à la déficience vitaminique.

C'est également l'avis de Watrin, Beurey et Mougeolle (95), qui, après avoir remarqué la présence du Candida, à l'état saprophyte, sur les muqueuses, constatent qu'il devient virulent sous l'influence de divers facteurs (cachexie, avitaminose, antibiotique). C'est que, d'une part, les antibiotiques détruisent la flore microbienne sensible et que, d'autre part, la disparition de cette flore intestinale utile a pour résultat une diminution de la riboflavine normalement élaborée par cette flore dans le milieu intestinal. Il y aura alors, diminution de la résistance des

muqueuses ce qui permettra aux levures, insensibles à ces deux facteurs, de se développer librement.

De Graciansky (33), pour sa part, étudie l'influence des carences vitaminiques et des carences protidiques sur la réceptivité des rats blancs aux infections à C. albicans. Il obtient des mycoses plus marquées chez les animaux carencés en vitamines. Il constate, de plus, que c'est surtout la carence en vitamine B_2 qui augmente la réceptivité des animaux à l'infection par C. albicans.

Certains auteurs avaient voulu déceler dans la vitamine B_2 une action mycostatique. C'était l'opinion de Watrin et Coll. (95) qui reprenaient la théorie de Luteran (55), pour qui la riboflavine aurait un rôle inhibiteur direct sur la croissance des levures. Mais de Graciansky (34) révéla que cette action mycostatique était provoquée, non par la vitamine B_2 mais par l'un des excipients dans lesquels elle est habituellement en suspension, et qui a pour but d'éviter toute altération (il s'agit d'un mélange nipagil+nipasol). Rembaud et Rioux (79) reprirent cette étude et conclurent qu'en effet, la vitamine B_2 n'entrave en rien la croissance de C. albicans.

Signalons pour terminer que d'autres vitamines sont également intéressées par les antibiotiques. En particulier la production de vitamine K serait réduite, ce qui pourrait expliquer les formes hémorragiques des accidents intestinaux au cours de l'antibiothérapie.

d) Autres facteurs favorisant la candidose digestive :

Woods, Manning et Patterson (99) pensent que les *modifications du pH intestinal* par altération de la flore, jouent un certain rôle. Il en résulterait une diminution de la résistance de l'organisme. Il est en effet établi depuis longtemps que la vie et la croissance des bactéries intestinales nécessitent certaines conditions physico-chimiques toujours semblables. Si, sous l'action des antibiotiques, ces facteurs sont perturbés, la

flore normale, ne trouvant plus les conditions optimum de son développement, disparaîtra, affaiblissant par contre-coup l'organisme, et laissant le champ libre à une infection plus ou moins grave. C'est ainsi que, secondairement à une modification du pH, les Candida, plus résistants, pourront se développer en grand nombre.

Munoz (68), de son côté, estime que *les antibiotiques inhibent l'activité phagocytaire des tissus* et rompent l'équilibre qui existe normalement entre la flore microbienne et la flore fongique.

Lipnick (53) se demande si le contact des antibiotiques avec la muqueuse des voies digestives, ne provoquerait pas une *inflammation* au niveau de laquelle des Candida se développeraient avec la plus grande facilité pour se généraliser par la suite.

D'autre part, Rostemberg et Webster (81) suggèrent que la diarrhée fréquente chez les sujets ayant absorbé des antibiotiques, déclencherait une dermite péri-anale. Ils précisent que les *enzymes digestifs,* amenés in situ, grâce au transit accéléré des matières, *seraient les agents actifs* et que, secondairement, les levures prolifèreraient sur cette zone.

Young et Coll. (100), se basant sur des constatations anciennes de Paine (71) relatives à un antagonisme entre Escherichia Coli et Candida, pensent qu'un tel antagonisme existe, à l'état naturel, dans la cavité buccale entre ces mêmes Candida et les lactobacilles. Ces derniers freinent les levures par une production abondante d'acide lactique, mais sensibles aux antibiotiques, ils disparaissent rapidement, laissant la place aux Candida.

En résumé, la pathogénie des accidents intestinaux par les antibiotiques implique d'abord l'étude du terrain. Mais si la notion de terrain allergique peut expliquer, par exemple, les dermites de contact avec les antibiotiques, nous ne possédons

pas de preuve permettant d'affirmer que la surinfestation du tube digestif par C. albicans provienne d'un état allergique. Toutefois, il faut souligner que les moniliases, dont nous avons décrit les diverses manifestations, apparaissent chez des individus affaiblis par une maladie antérieure, et plus ou moins intoxiqués par les antibiotiques mis en œuvre pour lutter contre le syndrome primitif. Le champignon pathogène trouve donc un terrain tout préparé, privé de ses moyens normaux de défense, et incapable de résister à une surinfection de quelque nature qu'elle soit.

En tout état de cause, deux facteurs importants interviennent certainement tout en s'interpénétrant : la destruction d'une flore sensible aux antibiotiques et l'avitaminose B. Il est probable aussi que les modifications du pH intestinal, la diminution de l'activité phagocytaire des tissus, l'état inflammatoire au niveau des muqueuses, l'action des enzymes digestifs et la rupture de l'antagonisme entre Candida et Lactobacilles, jouent un rôle certain dans l'éclosion de ces troubles.

TRAITEMENTS ACTUELS

Longtemps, on n'a disposé pour lutter contre les levures pathogènes, que de moyens peu efficaces, tel le violet de gentiane par voie endo-veineuse. L'iode fut longtemps considéré comme un antifongique de choix. Dénué d'activité sous forme de composé organique, il a donné des résultats indiscutables sous forme d'iodure métallique ou de solution de Lugol. Mais son action est surtout nette dans certaines mycoses cutanées alors qu'il semble peu actif sur les affections digestives à C. albicans.

On s'était également intéressé à l'action antifongique de certains acides gras. Parmi eux, *l'acide undécylénique* fut uti-

lisé pendant un certain temps, à la suite des travaux de Mountain et Krumenacher (65) qui obtinrent quelques résultats dans les complications secondaires à l'antibiothérapie. Ce produit a une action fongicide in vitro sur C. albicans, mais, administré par voie buccale, il n'empêche pas le développement du champignon comme ont pu le constater Brun et Coll. (14).

Siegal (86) attribuait une certaine activité à *l'acide parahydroxybenzoïque*, commercialisé sous le nom de méthyl-parabène. Pour Mac Vay et Sprunt (57), ce produit, à la concentration de 1 p. 1000, ralentit mais n'empêche pas, in vitro, le développement de C. albicans. Les recherches de Metzger (62) montrent effectivement que cette substance possède un pouvoir inhibiteur sur la pullulation des levures, mais les résultats ne sont pas constants.

Plusieurs autres antifongiques ont été proposés : la *tyrothricine, la streptothricine, la candicidine, la fracidine*, qui sont actives, in vitro, mais se montrent trop toxiques pour l'usage thérapeutique.

Beck et Lacy (4) étudièrent, in vitro, l'activité de nombreuses substances. Parmi les produits expérimentés par ces auteurs *l'iodochloroxy-quinoléine* (vioforme ciba) s'est révélé le plus actif.

Jadassohn et Coll. (42) décrivent l'action inhibitrice de la *dichloroxyquinaldine* sur les levures. Ils entreprirent des études sur des malades qui avaient été soumis à un traitement par la Terramycine et s'aperçurent que la dichloroxyquinaldine prévient ou tout au moins diminue le développement de Candida albicans. De plus, et cela n'est pas dénué d'intérêt, les dérivés de l'oxyquinaldine n'agissent pas in vitro sur les colibacilles comme le fait l'oxyquinoléine et ses dérivés. La flore colibacillaire de l'intestin n'est donc vraisemblablement pas influencée par l'ingestion de dichloroxyquinaldine. Toutefois, comme le signale Mozer (66), le produit n'étant pas résorbé par la

muqueuse intestinale, il va de soi que son efficacité se limitera aux moniliases digestives.

Le premier antifongique naturel découvert fut *l'actidione*. Retirée du Streptomyces griseus, elle fut isolée dans les laboratoires de l'UPJOHN C° sous forme cristallisée par LEACH, FORD et WHIFFEN (50). On a tout d'abord découvert qu'in vitro, elle peut être ajoutée aux milieux bactériologiques pour faciliter l'isolement des bactéries en présence de levures ou de moisissures [PHILIPS et HANEL (75), GEORG et Coll. (31)]. On a donc, par la suite, essayé de l'utiliser, in vivo, pour débarrasser l'organisme de Candida albicans, mais ce produit s'est révélé trop toxique.

Le seul antifongique naturel qui soit vraiment efficace, in vivo, est la *Mycostatine* (Nystatine Squibb), tirée en 1950 par HAZEN et BROWN (36) du *Streptomyces noursei*, au Laboratoire de recherches de New York State Department of Health.

HAZEN, BROWN, MASON (37), puis STERNBERG et Coll. (89) montrent que la nystatine possède une activité thérapeutique remarquable dans l'infection expérimentale provoquée par C. albicans chez la souris.

RAVINA et ELOY (77) confirment ces vues et proposent, en plus, d'utiliser ce produit à titre prophylactique au cours du traitement par les antibiotiques.

KIMMIG (44), JUSTIN-BESANÇON (43) arrivent aux mêmes conclusions après avoir signalé l'action curative et préventive de la Mycostatine vis-à-vis des Candida.

Les études de DROUHET (24), prouvent l'absence totale de toxicité aux doses thérapeutiques et permettent les conclusions suivantes :

In vitro — Action fongistatique: la Mycostatine se montre active sur toutes les espèces de Candida. Le milieu utilisé, ayant donné les meilleurs résultats, est à base d'asparagine, de glu-

cose, d'oligoéléments et de vitamines. Il est tamponné à pH = 7 (Les milieux à pH acide, comme celui de Sabouraud, réduisent l'activité de l'antibiotique).

— action fongicide : cet antibiotique antifongique possède également une action fongicide. Cependant, il faut des doses 50 à 100 fois plus fortes que la concentration moyenne fongistatique pour tuer C. albicans.

In vivo — Les expériences poursuivies sur le lapin ont montré la faible toxicité de la Mycostatine et son action remarquable sur l'infection digestive expérimentale du lapin. C'est ainsi que l'administration pendant 3 jours de 50 mg/kg par voie digestive amène une réduction considérable du nombre des levures des matières fécales. Il est cependant à signaler que des doses trop faibles d'antibiotique n'empêchent pas un retour de l'infection.

L'efficacité de la Mycostatine ressort enfin des récentes recherches effectuées par Rimbaud et Coll. (80). Après avoir créé chez le jeune chien, une candidose digestive (régime hyperglucidique et antibiotiques à haute dose), ces auteurs enregistrent une diminution du taux fécal des levures chez les animaux traités par la Mycostatine. La dichloroxyquinaldine se montre inactive dans les mêmes conditions expérimentales.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE II

LA MONILIASE EXPERIMENTALE DU COBAYE

LA FLORE INTESTINALE DU COBAYE

Chez les mammifères, la flore intestinale présente des aspects variés en fonction de l'espèce. Crecelius et Rettger (19), au cours d'une étude du contenu microbien de l'intestin du cobaye, notent qu'environ 80 p. 100 de la flore cultivable consiste en un lactobacille ressemblant au L. acidophilus. Le reste comporte surtout des bactéries du sol et de l'air, des levures et une sarcine anaérobie. Les coliformes et les entérocoques ne se rencontrent que rarement.

A l'examen direct, cette flore paraît beaucoup plus polymorphe. Maury (60) signale la présence de staphylocoques, de coliformes, de Protéus et d'entérocoques. Carrere et Roux (17) confirment cette opinion et retrouvent principalement des coliformes et des staphylocoques non pathogènes.

Personnellement, nous avons toujours observé, chez les animaux témoins, une flore harmonieusement équilibrée, c'est-à-dire constituée par autant de germes gram positifs que gram

négatifs. Les entérocoques et les lactobacilles dominent dans le premier groupe, avec parfois, des sarcines et des tétragènes. Les gram négatifs ne diffèrent pas, pour la plupart, des entérobactériacées banales. A plusieurs reprises, nous avons constaté la présence, en grande abondance, d'éléments géants, gram positifs, en tétrades, qui ont pu être identifiés à la Sarcina maxima, déjà signalée par Crecelius et Rettger (19).

De toute évidence, la nature du régime alimentaire exerce, sur la flore intestinale, une influence primordiale. Un régime constitué surtout de glucides enrichit immédiatement l'intestin en lactobacilles ; un régime plus varié (légumes verts, fourrage, avoine ou provende spéciale pour rongeur type Sorolabo) entraîne le polymorphisme que nous avons constaté.

CHOIX ET USAGE DES ANTIBIOTIQUES

Les antibiotiques à large spectre d'activité sont, nous l'avons vu, particulièrement indiqués pour provoquer une moniliase expérimentale. Parmi ceux-ci, notre choix s'est arrêté, après différents essais, à l'Auréomycine et à la Terramycine. Ces deux produits nous paraissent être les plus actifs et provoquent, per os, des troubles très voisins. Différents auteurs accordent leur préférence à l'une ou l'autre de ces substances : Mac Govern et Coll. (56), d'Agata (20), mais la moniliase intestinale s'instaure aussi souvent quel que soit l'antibiotique utilisé. Afin de standardiser nos expériences, des doses identiques ont été administrées aux animaux constituant les divers lots : une prise orale chaque jour, d'une quantité équivalant à 2 gr. de substance pour un individu de 60 kg. Quelques essais ont été pratiqués en doublant cette dose, mais dans un seul cas, nous avons observé une infestation plus précoce. Buttiaux (15) signale d'ailleurs que le principal facteur de la moniliase expérimentale réside dans la prolongation du traitement plutôt que dans l'emploi de doses élevées.

CARACTERISATION DE CANDIDA ALBICANS

La caractérisation du C. albicans repose sur un certain nombre de techniques. En effet, comme nous allons le voir, un examen direct n'est pas suffisant pour affirmer que l'on a affaire à cette espèce. On doit faire suivre cette recherche de l'isolement, puis de l'identification des levures. Ce sont ces méthodes que nous nous proposons maintenant de passer en revue.

1. - Examen direct des matières fécales :

On prépare une suspension fécale en eau stérile dans des conditions strictement définies, de telle sorte qu'un volume déterminé représente dans tous les cas le même poids de féces. L'examen microscopique s'effectue sur des frottis préparés avec un volume connu de ces suspensions étalé sur une surface déterminée de la lame porte-objet.

Les frottis séchés et fixés par la chaleur sont alors colorés par *la méthode de* GRAM modifiée par HUCKER et KONN (38). Ces auteurs préconisent l'utilisation du cristal violet, de la solution de Lugol modifiée (Iode, 1 gr, iodure de potassium 2 gr, eau distillée 300 cm^3) et de la safranine. Nous employons donc les quatre réactifs suivants :

Cristal violet de Hucker.
Solution de Gram (Lugol),
Alcool iodé,
Safranine.

a) *Technique de la coloration*

On recouvre les frottis du réactif de Hucker, 1 minute environ. On rejette et on lave rapidement à l'eau.

On fait alors agir la solution de Gram 1 à 2 minutes. On égoutte.

On verse alors l'alcool iodé sur la lame inclinée jusqu'à ce qu'il n'entraîne plus de violet et qu'il s'écoule avec sa teinte naturelle.

On lave à l'eau distillée.

On recolore par la safranine que l'on laisse agir 1 minute environ. On lave enfin à l'eau distillée.

b) *Examen microscopique.*

On place le frottis coloré sous le microscope et on observe à l'immersion. On peut ainsi non seulement apprécier les variations qualitatives, mais encore se faire une idée assez exacte des modifications quantitatives de la population microbienne. Un soin particulier est apporté à la recherche des champignons levuriformes. Lorsque de tels organismes sont rencontrés, on note s'il s'agit de cellules en croissance active (multiplication par bourgeonnement) ou en dégénérescence.

Cependant, en raison de l'aspect levuriforme que peuvent prendre certains champignons filamenteux, le seul examen direct ne suffit pas pour affirmer que l'on a affaire à C. albicans. Il devra être suivi de la culture.

2. - Cultures :

a) *Isolement*

Drouhet et Couteau (26) donnent une méthode permettant l'isolement de C. albicans. Elle consiste à ensemencer les matières fécales sur gelose lactosée à l'éosine et au bleu de méthylène additionnée de 100 γ d'auréomycine par mg. Le milieu est incubé à 37° en atmosphère de gaz carbonique (10 à 20 p. 100). En 48 heures, les Candida sont les seuls à donner des colonies filamenteuses.

Glick et Rein (32) cultivent les Candida sur milieu solide de Nickersons au sulfite de Bi. Sur ce milieu, C. albicans forme

des traînées de colonies noires, hémisphériques avec filaments périphériques.

Marcus et Coll. (59) étudient de leur côté, plusieurs milieux pour l'isolement des levures pathogènes et notamment :

— le milieu de Sabouraud,
— la gelose nutritive au sang,
— la gelose au sang et aux antibiotiques.

Si, la plupart du temps, la gelose au sang et aux antibiotiques se montre supérieure au milieu de Sabouraud, en ce qui concerne le C. albicans, ces deux milieux se valent.

Personnellement, nous avons utilisé le milieu de Sabouraud modifié par Langeron.

Glucose	2 g.
Peptone	1 g.
Gelose	2 g.

Eau q.s.p. 100 cm^3.

A ce milieu coulé en tubes, nous avons ajouté, au moment de l'emploi, de l'Auréomycine (100 μg. par cm_3). Cet antibiotique, comme le font remarquer Drouhet et Couteau (26), n'a aucune action inhibitrice sur la croissance du Candida et, d'autre part, inhibe la culture de nombreuses bactéries. Signalons que d'autres antibiotiques sont utilisables pour freiner le développement des bactéries. Vieu (94), pour sa part, préconise l'emploi de la Néomycine (750 μg. par cm_3), du Chloramphénical (500 μg. par cm_3) et de la Framycétine (250 μg. par cm_3).

L'ensemencement de la dilution de matières fécales se fait en stries, puis les tubes sont placés à l'étuve à 37°. Les colonies de Candida seront visibles au bout de 24 ou 48 heures.

b) *Purification :*

Malgré l'addition d'antibiotiques au milieu, les primo-cultures sont presque toujours souillées de bactéries apportées par le pré-

lèvement, ou par d'autres champignons saprophytes. Pour inhiber le développement de ces derniers, Georg et Coll. (31) préconisent l'emploi de la cycloheximidine ou Actidione. La pullulation des bactéries est cependant l'ennui le plus sérieux. On pallie cet inconvénient en repiquant la primo-culture sur un nouveau milieu Sabouraud-Auréomycine. L'obtention d'une culture pure, débarrassée de toute impureté microbienne, demande parfois 5 à 6 repiquages.

c) *Conservation :*

La constitution d'une collection de souches au laboratoire exige le repiquage sur milieu de Sabouraud non glucosé. Le défaut de glucide inhibe la production de cellules végétatives au profit des formes de résistance.

3. - Identification du parasite :

a) *Recherche des chlamydospores :*

La morphologie microscopique du C. albicans est, nous l'avons vu, extrêmement variable, et de peu d'utilité pratique pour son identification. Cependant, comme l'ont montré Langeron et Guerra (48), le C. albicans se distingue des autres espèces du genre par la production, sous certaines conditions, de chlamydospores. L'identification rapide de ce parasite repose principalement dans l'obtention de ces « kystes végétatifs de conservation ». De nombreux milieux et techniques ont été décrits ces dernières années. Nous avons déjà cité le milieu pomme de terre-carotte de Talice (90) et la gélose à la farine de maïs de Benham (7). Signalons encore la technique de Bakerspigel (2) (développement sous lamelle dans un milieu à la farine de maïs jaune) et le milieu de Seeliger (83) (milieu semi-liquide dextrose-tween 80 additionné de cystéine).

Pavlatou et Marcelou (73) ajoutent 20 p. 100 de bile de bœuf au milieu pomme de terre-carotte et obtiennent ainsi des

chlamydospores en moins de 24 heures. C'est ce dernier milieu que nous avons utilisé dans notre étude personnelle.

A partir du milieu d'isolement, on ensemence en deux points, au fond du tube, puis selon une strie légèrement en profondeur. On laisse le milieu séjourner 24 heures à la température du laboratoire. On fait alors un frottis que l'on fixe par l'alcool méthylique et que l'on colore par le Giemsa dilué (III gouttes par cm^3 d'eau). A l'immersion, les chlamydospores apparaissent comme de grosses cellules d'environ 10 μ entourées d'une épaisse capsule colorée en violet.

Cependant, la recherche des chlamydospores n'est pas le seul critère sur lequel on peut se baser pour identifier le Candida albicans, on peut également avoir recours à l'étude des caractères biochimiques de la souche.

b) *Méthodes zymographiques :*

La fermentation des sucres est l'une des propriétés les plus importantes des champignons levuriformes. Elle traduit la désintégration des sucres en anaérobiose jusqu'au stade de dégagement de gaz carbonique. Deux conditions sont nécessaires pour obtenir des résultats satisfaisants :

— ne tester que des souches purifiées,

— n'employer que des sucres purs.

Nous avons utilisé la méthode de la cloche renversée dans un tube à essai et, par ce procédé, nous avons étudié l'action de différentes souches de Candida sur les sucres suivants :

— glucose,

— saccharose,

— maltose,

— lactose,

— raffinose.

Le milieu de base que nous avons employé est le Purple Broth Base (Difco). On le répartit par fraction de 9 cm^3 dans différents tubes. Après stérilisation, on ajoute dans chacun d'eux

1 cm^3 d'une solution à 10 p. 100 d'un des 5 sucres à tester. On porte à ébullition 5 minutes pour faire évacuer l'air et on ensemence, après refroidissement des tubes, par émulsion dans le milieu de 2 anses de culture prélevées sur milieu de Sabouraud. Les tubes sont portés à l'étuve à 37° où on les laisse séjourner 3 à 10 jours.

Lorsqu'un sucre a été fermenté par le C. albicans, l'acidification du milieu se traduit par un virage du violet au jaune et, lorsqu'il y a, en même temps, dégagement de gaz, le gaz carbonique se localise en grande quantité sous la cloche.

Candida albicans donne les résultats suivants :
glucose, maltose : acidification et dégagement de gaz.
saccharose, lactose, raffinose : test négatif.

c) *Méthode auxanographique :*

L'étude de l'assimilation des sucres est, d'après Wickerman (97), une méthode plus sensible que la fermentation pour la détermination des levures anacosporées.

Lodder et Coll. (54) ont adapté la méthode de Beijerink (6) à l'étude des levures. Ces auteurs coulent dans une boîte de Pétri une émulsion de la levure à étudier dans un milieu gélosé contenant seulement des substances azotées nécessaires au développement du champignon. On dépose alors les sucres à étudier à la surface du milieu. Les levures ne se développent que dans la zone de diffusion du sucre assimilé.

Soto (88), préconise en 1948 l'emploi de disques de papier imprégnés de glucides. Cependant Phaff et Knapp (74) ont récemment signalé l'inconvénient de cette méthode : certains sucres comme la saccharose et le raffinose sont hydrolysés par les levures beaucoup plus rapidement qu'ils ne sont assimilés, d'où une source d'erreur dans la lecture des tests.

Nous avons donc abandonné cette méthode pour identifier nos différentes souches de Candida, la recherche des chlamy-

dospores à laquelle nous avons adjoint accessoirement l'épreuve de fermentation des sucres, étant pratiquement suffisante.

d) *Inoculation* :

Saez (82) signale que l'inoculation à l'animal d'une suspension de champignon pathogène garde son intérêt dans certains cas : par exemple lorsque les cultures demeurent stériles ou que la souche étudiée ne fournit pas de chlamydospores.

Certains animaux sont réceptifs à l'inoculation du C. albicans. C'est ainsi que par voie intraveineuse, le lapin succombe en 4 ou 5 jours ; une injection sous-cutanée provoque la formation d'un abcès en 48 heures chez le lapin et la souris.

Pour notre part, nous avons essayé nos différentes souches sur la souris, et nous avons pu, dans certains cas, observer la formation d'un abcès.

Cet abcès, toutefois, ne se produit pas toujours, car des repiquages successifs diminuent la virulence de la souche. Il est donc parfois nécessaire d'augmenter cette virulence. Différents procédés ont été proposés. Citons simplement l'utilisation de la mucine gastrique par Campbell et Coll. (16). L'injection de C. albicans en suspension dans 5 p. 100 de mucine provoquerait la mort de la souris en 48 heures.

CHAPITRE III

ETUDE DE QUELQUES ANTIFONGIQUES

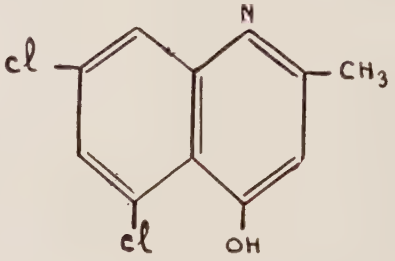
Les deux antifongiques le plus couramment proposés à l'heure actuelle pour le traitement des moniliases intestinales sont, d'une part un produit de synthèse, la 5-7-*dichloroxyquinaldine* et, d'autre part, un antibiotique naturel, la *Mycostatine*. L'opinion des différents auteurs qui ont eu l'occasion d'utiliser ces produits se montre assez divergente. Pour la dichloroxyquinaldine, par exemple, JADASSOHN (42), nous l'avons déjà vu, pense qu'il s'agit d'une substance, sinon fongicide, du moins fongistatique, dont les effets se montrent très satisfaisants. En revanche RIMBAUD et Coll. (80) expérimentant sur le chien, ne remarquent aucune variation du taux fécal des Candida après administration du produit. La Mycostatine semble faire davantage l'unanimité : DROUHET (25), DEBRE (21), BERNARD et Coll. (8) et LEFORT (51), s'accordent pour reconnaître son action puissante sur les levures pathogènes. On relève toutefois quelques contradictions dans les travaux de ces auteurs, qui font de la Mycostatine tantôt un fongicide vrai, tantôt un simple fongistatique, très actif toutefois.

En ce qui concerne la moniliase expérimentale chez le cobaye, nous n'avons trouvé, dans toute la littérature spécialisée, aucun travail récent permettant de juger de l'activité comparée de ces deux antifongiques. C'est pourquoi nous avons entrepris les recherches expérimentales relatées dans le présent chapitre.

LA 5-7 DICHLOROXYQUINALDINE

1. - Constitution chimique :

Spécialisé sous le nom de Stérosan,* c'est un produit synthétique répondant à la formulation suivante :



Il se présente sous l'aspect d'une poudre jaune pâle, insoluble dans l'eau, légèrement soluble dans l'alcool et l'acétone.

2. - Action in vitro :

L'insolubilité du Stérosan dans l'eau conduit à modifier les techniques habituellement utilisées en mycologie. JADASSOHN et Coll. (41) préconisent l'emploi de bandes de papier imprégnées d'une solution acétonique de la substance. Après évaporation du solvant, le papier est introduit dans un milieu de culture liquide à base de moût de bière et les levures sont ensemencées directement sur la partie non immergée de ce papier.

De notre côté, nous avons simplement émulsionné le Stérosan dans le milieu classique de Sabouraud modifié par LANGERON. Nos résultats qui figurent dans le tableau n° 1, sont étroitement comparables à ceux de BRUN, MOZER et JADASSOHN (14). Ils représentent les essais effectués sur huit souches de C. albicans isolées de l'intestin du cobaye.

---

* Nous remercions les Etablissements Geigy qui ont bien voulu nous procurer la 5-7-dichloroxyquinaldine nécessaire à notre expérimentation.

Tableau I

Concentration du Sterosan dans le milieu de culture en o/oo	I	0,1	0,05	0,025	0,01	0,001
Souche I	—	—	—	—	+	+ +
" II	—	—	—	—	+	+ +
" III	—	—	—	+	+	+ +
" IV	—	—	—	—	—	+ +
" V	—	—	—	—	+	+ +
" VI	—	—	—	+	+ +	+ +
" VII	—	—	—	—	—	+ +
" VIII	—	—	—	+	+ +	+ +

Légende : Croissance complètement inhibée, — ; croissance partiellement inhibée, + ; aucune inhibition (témoin) + +.
Les lectures sont faites après 48 heures.

3. - Action in vivo :

Les expériences que nous avons entreprises sur le Stérosan visaient à préciser le comportement de ce médicament à un triple point de vue :

1° Action du produit sur la flore intestinale normale.

2° Activité du produit dans les cas de moniliase intestinale secondaire à l'antibiothérapie.

3° Etude de l'action protectrice vis-à-vis de C. albicans, lorsque le Stérosan est administré à titre préventif.

a) Considerations generales sur le protocole experimental:

Choix des animaux :

Cobayes sélectionnés d'un poids moyen de 400 à 500 gr.

Nourriture : fourrage et légumes frais.

Les animaux sont répartis en cages métalliques individuelles.

La courbe de croissance est établie par pesées bi-hebdomadaires. Sont éliminés tous les animaux ne présentant pas une courbe de croissance régulière pendant les 15 jours qui précèdent une expérience.

Administration des drogues :

La substance est mise en suspension dans l'eau et administrée aux cobayes à l'aide d'une seringue munie d'un embout métallique à pointe mousse, ou plus simplement avec une pipette de verre.

Constitution des différents lots d'animaux :

Lot N° 1 : Animaux témoins.
Lot N° 2 : Animaux recevant le Stérosan seul.
Lot N° 3 : Animaux recevant l'Auréomycine seule.
Lot N° 4 : Animaux traités d'abord par l'Auréomycine, et ensuite par le Stérosan.
Lot N° 5 : Animaux traités d'abord par l'Auréomycine et une suspension de C. albicans et ensuite par le Stérosan.
Lot N° 6 : Animaux recevant en même temps l'Auréomycine et le Stérosan.
Lot N° 7 : Animaux recevant l'Auréomycine puis laissés au repos.

Posologie :

Auréomycine, administration quotidienne d'une dose correspondant à 2 g. d'antibiotique chez un homme de 60 kg.

Stérosan.... administration quotidienne d'une dose correspondant à 1 g. de produit chez un homme de 60 kg.

Suspension de C. albicans : chaque dose est constituée par 1 cm_3 d'eau stérile dans laquelle on émulsionne 2 anses d'une culture de C. albicans sur milieu de Sabouraud.

b) Comportement des differents lots d'animaux :

LOT N° 1 : Animaux témoins :Lot de 8 cobayes.

Comportement normal.

Flore intestinale ne présentant d'un jour à l'autre que de faibles variations qualitatives et quantitatives. Equilibre entre germes Gram positifs et Gram négatifs.

LOT N° 2 : Animaux recevant le Stérosan seul. Lot de 9 cobayes subissant un traitement de 15 jours.

Cobayes 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9 :

Courbe de croissance : Légère perte de poids, puis croissance analogue à celle des témoins.

Flore intestinale :

au 4e jour : augmentation du nombre des germes Gram positifs (Essai d'isolement des staphylocoques pathogènes négatif).

au 8e jour : Retour à l'équilibre primitif.

au 11e jour : Léger excès des germes Gram négatifs.

au 15e jour : La flore se montre pratiquement identique à celle des témoins.

Cobayes 5, 6 :

Flore intestinale :

au 7e jour : La flore intestinale s'appauvrit légèrement. On note une prédominance des Gram négatifs.

au 15e jour : Même aspect des frottis : Flore moins abondante que chez les témoins : assez large excès des germes Gram négatifs.

Courbe de croissance :

Fléchissement très net au 11e jour. A la fin du traitement, perte de poids de 20 p. 100 par rapport aux témoins.

LOT N° 3 : Animaux recevant l'Auréomycine seule. Lot de 10 cobayes.

L'action de l'antibiotique est presque immédiate. Dans un délai de 2 à 4 jours (le plus souvent), la flore intestinale est gravement perturbée : appauvrissement considérable et extrême monotonie de la population bactérienne. On constate ensuite une sélection de quelques espèces (Gram positifs ou Gram négatifs selon le cas). Les levures apparaissent de façon plus ou moins précoce. Chez 6 animaux, on isole et caractérise Candida albicans. Effondrement de la courbe de croissance.

Sur les 10 animaux en observation :
les cobayes 3, 5, 6, 7, 10 meurent entre le 6e et le 10e jour.
les cobayes 1, 2, 4, 8, 9 ne s'alimentent plus et perdent de 20 à 40 p. 100 de leur poids lorsque le traitement cesse au 10e jour.

Signalons qu'un 11e cobaye mis en expérience a très bien supporté le traitement par les antibiotiques. Sa flore intestinale, très faiblement perturbée ne présente qu'une légère diminution des germes gram positifs. Son poids n'a pas varié au cours des 15 jours d'étude.

LOT N° 4 : Animaux traités d'abord par l'Auréomycine et ensuite par le Stérosan. Lot de 6 cobayes.

Les animaux reçoivent de l'Auréomycine jusqu'à ce que leur flore intestinale permette l'isolement et la caractérisation de C. albicans. A ce moment, on cesse d'administrer l'antibiotique et l'on instaure le traitement par le Stérosan.

Sur 15 animaux mis en expérience, 6 meurent en cours de traitement par l'Auréomycine, 3 n'ont jamais présenté une infection par C. albicans. Seuls 6 cobayes peuvent être sélectionnés pour l'étude du Stérosan.

Cobaye n° 1 : 11 jours de traitement par l'Auréomycine.

Effet du Stérosan :

Après 4 jours : flore assez riche avec cependant prédominance de coques gram positifs.
Présence de levures.

Après 6 jours : la majorité de la flore est constituée par des coques gram positifs (chapman négatif).
Quelques levures.

Après 10 jours : la flore redevient plus polymorphe et s'enrichit peu à peu.
Les levures sont peu nombreuses et jamais en cours de reproduction.

Après 15 jours : Flore riche mais où les germes gram négatifs dominent. Il y a toujours quelques levures.

Courbe de croissance :

départ	11 jours	8 jours	15 jours
360 g.	300 g.	305 g.	320 g.
	–		
Auréomycine	Stérosan		

Cobaye n° 2 : 4 jours de traitement par l'Aéromycine :

Effet du Stérosan :

Après 4 jours : la flore est pauvre : peu de germes gram négatifs. Davantage de gram positifs (surtout entérocoques et tétragènes. Présence de levures.

Après 6 jours : Flore toujours appauvrie dans laquelle les coques gram positifs prédominent (chapman négatif).
Quelques levures. Signalons cependant une légère diminution par rapport au début du traitement.

Après 10 jours : Les germes gram négatifs se font plus nombreux (Il y a cependant un léger excès de germes gram positifs).
Quelques levures.

Après 15 jours : Flore à peu près équilibrée .
Quelques levures.
L'état général du cobaye, très altéré au début du traitement, s'est amélioré. Le poil n'est plus hérissé.

Courbe de croissance :

Départ	4 jours	8 jours	15 jours
415 g.	395 g.	395 g.	395 g.
+	+		
Auréomycine	Stérosan		

Cobaye n° 3 : 5 jours de traitement par l'Auréomycine.

La flore intestinale renferme un nombre très élevé de levures. Le cobaye meurt 24 heures après la première administration de Stérosan.

Cobayes 4 *et* 5 : 6 jours de traitement par l'Auréomycine.

Effet du Stérosan :

Après 3 jours : La flore est déjà plus polymorphe.
Les levures sont moins nombreuses et ne se reproduisent plus par scissiparité.

Après 8 jours : La flore s'est équilibrée peu à peu. Elle est maintenant riche et variée.
Quelques levures.

Courbe de croissance :

Départ	6 jours	8 jours
375 g.	320 g.	305 g.
410 g.	335 g.	305 g.
+	+	
Auréomycine	Stérosan	

Nous poursuivons l'expérience sur le cobaye n° 4 :
— La flore demeure polymorphe.
Nous retrouvons toujours quelques levures.
— Le cobaye reprend du poids.

15 jours	21 jours
330 g.	365 g.

Cobaye n° 6 : Animal recevant une dose d'Auréomycine correspondant à 2 g. pour un homme de 60 kg. (4 jours), puis à 4 g. (2 jours).

Effet du Stérosan :

Après 48 heures : La flore n'a pas varié. Elle est pauvre mais constituée d'un mélange égal de germes gram positifs et gram négatifs.
Les levures persistent mais semblent plus rarement en état de division.

Après 6 jours : La flore s'enrichit, elle est assez variée.
Quelques levures.

Après 7 jours : mort du cobaye.
Flore variée mais pauvre.
Quelques levures.

Courbe de croissance :

Départ	6 jours	4 jours	7 jours
320 g.	290 g.	290 g.	275 g. +
+	+		
Auréomycine	Stérosan		

LOT N° 5. — Animaux traités d'abord par l'Auréomycine et une suspension de C. albicans, et ensuite par le Stérosan. Lot de 4 cobayes.

Au cours de cette expérience, l'infestation se montre trop sévère. Sur les 4 cobayes ainsi traités, 2 meurent au 5e jour. Aux deux autres, on administre le Stérosan :

L'un meurt au bout de 24 heures.

L'autre a le poil hérissé mais ne présente que quelques levures ne se reproduisant pas. Sa flore est assez nettement perturbée.

Effet du Stérosan :

Après 4 jours : la flore s'enrichit, elle est variée : on ne retrouve plus de levures, ou en état de dégénérescence (culture négative).

LOT N° 6 : Animaux recevant en même temps l'Auréomycine et le Stérosan. Lot de 6 cobayes.

Après 48 heures : Flore intestinale ne subissant que peu de variations et restant bien équilibrée.

Après 4 jours : 5 cobayes conservent une flore à peu près normale ; 1 animal montre une flore appauvrie, mais on ne peut y déceler de levures.

Après 5 jours : Perte de poids générale : Un cobaye meurt, un autre présente quelques rares levures dans sa flore.

Après 7 jours : Flore bactérienne assez sérieusement perturbée. Mort de 2 cobayes.

Au cours de cette expérience, nous avons isolé Candida albicans chez 2 cobayes sur 6.

LOT N° 7. — Animaux recevant l'Auréomycine jusqu'à apparition du C. albicans puis laissés au repos. Lot de 3 cobayes.

Nous avons constitué ce lot afin de voir si les levures ne disparaissaient pas spontanément après interruption du traitement par l'antibiotique.

Nous avons suivi les 3 animaux de ce groupe pendant 15 jours après l'arrêt de l'antibiothérapie. Chez 2 d'entre eux nous avons pu observer la présence constante de levures.

Le 3e cobaye est mort 2 jours après l'interruption du traitement.

c) Conclusions :

1) *Action du Stérosan sur la flore intestinale normale :*

En général, on constate une bonne tolérance du milieu intestinal. Les faibles variations qualitatives ou quantitatives de la flore microbienne se confondent avec les fluctuations de la flore fécale des témoins.

Chez deux animaux, on remarque un appauvrissement bactérien accompagné d'un fléchissement de la courbe de croissance. Mais il semble difficile de rapporter uniquement à la dichloroxyquinaldine un incident dont plusieurs facteurs étrangers peuvent être responsables. On n'observe jamais la sélection de staphylocoques pathogènes.

2) *Action du Stérosan sur la moniliase provoquée :*

Le lot n° 3 (cobayes traités par l'Auréomycine) montre le lourd tribut que les animaux de ce groupe ont payé à la suite de l'antibiothérapie. 50 p. 100 des cobayes meurent au cours des 10 premiers jours. Candida albicans se retrouve chez 75 p. 100 des animaux.

Le lot n° 4 (cobayes traités par l'Auréomycine puis par la dichloroxyquinaldine) permet d'évaluer l'effet thérapeutique du Stérosan. Chez 5 animaux on note une diminution du nombre des levures que le médicament n'arrive pas à faire disparaître totalement. Parallèlement la flore intestinale revient à l'état normal, avec parfois une légère prédominance des germes gram négatifs, et les animaux reprennent du poids.

Un sixième animal succombe de façon précoce, ne laissant nous avons pu observer la présence constante de levures.

Le lot n° 5 (cobayes traités d'abord par l'Auréomycine et une suspension de C. albicans puis par la dichloroxyquinaldine)

montre qu'une infestation massive entraîne une mort très rapide chez le cobaye, malgré un essai de traitement.

On peut donc conclure à une activité mycostatique assez satisfaisante du Stérosan (dichloroxyquinaldine) au cours des moniliases intestinales provoquées par l'antibiothérapie.

3) *Effet préventif :*

Malgré un traitement sévère par l'antibiotique, l'administration simultanée de dichloroxyquinaldine protège, dans une certaine mesure, le milieu intestinal contre l'envahissement par C. albicans. En effet, chez les deux cobayes présentant des levures, celles-ci demeurent cependant en quantité plus restreinte que chez les animaux traités uniquement par l'Auréomycine.

50 p. 100 des cobayes, dont la flore intestinale est fortement dégradée par l'antibiotique, succombent après une semaine de traitement. On retrouve donc le taux de mortalité enregistré chez les animaux du lot n° 3 (cobayes traités par l'Auréomycine seule). La dichloroxyquinaldine ne protège donc pas contre l'action toxique de l'antibiotique, mais il faut noter cependant que la dégradation de la flore intestinale subit un certain retard : ce n'est qu'au 5e ou 6e jour de traitement que l'antibiotique parvient à rompre l'équilibre bactérien alors que ce résultat est obtenu habituellement au bout de 2 ou 3 jours (Lot n° 3).

Chez la majorité des cobayes du lot n° 6 (animaux recevant en même temps l'Auréomycine et le Stérosan), on ne réussit pas à isoler la levure pathogène. On peut donc conclure que la dichloroxyquinaldine exerce un effet préventif vis-à-vis de C. albicans lorsqu'on l'administre en même temps que l'antibiotique. Cet effet n'est cependant pas absolu, et quelques échecs sont à signaler.

LA MYCOSTATINE

1. - Constitution chimique :

La Mycostatine*, ou Nystatine, est une substance naturelle isolée des cultures d'une Actinomycétale, le Streptomyces noursei. Seule la formule brute est connue, la structure chimique exacte de cet antibiotique reste à élucider. La Mycostatine présente l'aspect d'une poudre cristalline jaune pâle, de saveur amère, inodore. Insoluble dans l'eau, le chloroforme, l'acétone, elle se dissout légèrement dans l'alcool et facilement dans la pyridine.

2. - Définition de l'unité antibiotique :

L'unité de Mycostatine est la plus petite quantité de cet antibiotique qui inhibe complètement la croissance d'une souche témoin de Saccharomyces cerevisiae dans 1 cm^3 de bouillon.

A partir de cette unité biologique on a déduit une unité pondérale qui est définie :

1 unité = 1 gamma d'un échantillon standard HA 224 AX.

Actuellement on utilise un échantillon standard pur (HV 434)

1 mg. de l'échantillon HV 434 = 3.700 unités.

3. - Action in vitro :

La Mycostatine provoque l'inhibition de la plupart des germes mycosiques, pathogènes ou saprophytes, des levures banales ou industrielles et des diverses moisissures ,à l'exception des Actinomycètes comme le constatent Ravina et Eloy (77). En revanche, selon les fabricants, cet antibiotique ne manifesterait aucun effet nocif sur la plupart des bactéries.

---

* Nous remercions les Etablissements Squibb qui ont bien voulu nous procurer gracieusement la Mycostatine nécessaire à notre expérimentation.

Nous avons étudié la sensibilité à la Mycostatine des diverses souches de C. albicans, isolées au cours de nos recherches, en suivant le protocole déjà décrit à propos du Stérosan. On trouvera, au tableau II, les résultats de ces expériences.

Tableau II

Concentration de la Mycostatine dans le milieu de culture en unités	50 U	20 U	15 U	10 U	8 U	6 U
Souche I	—	—	—	—	+	+ +
" II	—	—	—	+	+ +	+ +
" III	—	—	+	+ +	+ +	+ +
" IV	—	—	—	—	+	+ +
" V	—	—	—	+	+	+ +
" VI	—	—	+	+ +	+ +	+ +
" VII	—	—	—	+ +	+ +	+ +
" VIII	—	—	+	+ +	+ +	+ +

Légende : croissance complètement inhibée, — ; croissance partiellement inhibée, + ; aucune inhibition (témoin), + +.
Les lectures sont faites après 48 heures.

La firme Squibb indique, pour C. albicans, une concentration inhibitrice égale à 7,81 unités par cm^3. Nous trouvons personnellement une sensibilité un peu moindre, située entre 10 et 15 unités par cm^3. Cette différence tient sans doute au fait que nous avons introduit la Mycostatine dans les milieux de Sabouraud sous forme d'une suspension aqueuse, tandis que les essais antérieurs furent pratiqués à l'aide de disques de papier imprégnés d'une solution de l'antifongique dans le *n-propanol*. Les fabricants signalent en effet une légère inhibition de l'activité de cette substance lorsqu'elle se trouve en milieu aqueux. De plus, Drouhet (24) signale que les milieux à pH acide, comme celui de Sabouraud, réduisent l'activité de l'antifongique.

4. - Action in vivo :

a) Considerations generales sur le protocole experimental:

Calqué sur l'expérimentation déjà décrite à propos du Stérosan, le protocole n'en diffère que sur les points suivants :

Posologie : On administre chaque jour, une dose correspondant à 3.000.000 d'unités de Mycostatine chez un homme de 60 kg.

Constitution des différents lots d'animaux : Aux 7 lots d'animaux déjà étudiés pour le Stérosan, nous avons ajouté un huitième groupe de cobayes que nous avons traité d'abord par la Mycostatine, pendant 5 jours, et ensuite, soit par la Terramycine, soit par l'Auréomycine. En effet, nous avons voulu vérifier l'opinion de certains cliniciens qui ont constaté que cet antifongique exerçait une action préventive lorsqu'il était administré avant l'antibiotique.

b) Comportement des differents lots d'animaux :

Lot N° 1 : Animaux témoins.

Lot N° 3 : Animaux recevant l'antibiotique seul.

Lot N° 7 : Animaux recevant l'antibiotique puis laissés au repos.

Ces trois lots sont communs aux deux expérimentations et l'on se reportera aux détails mentionnés lors de l'étude de la dichloroxyquinaldine.

LOT N° 2 : Animaux recevant la Mycostatine seule. Lot de 6 cobayes.

Cobayes 1, 3, 4, 5, 6.

Courbe de croissance : On note un certain temps de latence puis courbe très proche de celle des témoins.

Flore intestinale :

au 4e jour : Très léger excès des germes gram négatifs ; Flore très riche cependant.

au 8e jour : Flore à peu près normale.

au 15e jour : Flore identique à celle des témoins.

Cobaye 2 :

Flore intestinale :

au 4e jour : diminution des germes gram positifs, mais la flore reste très riche.

au 15e jour : la flore ne varie pas. Léger excès des germes gram négatifs.

Courbe de croissance :

Fléchissement très net au 8e jour : le cobaye accuse une perte de poids de 20 p. 100. Au bout de 15 jours cependant le cobaye reprend régulièrement du poids (augmentation de l'ordre de 8 p. 100).

LOT N° 4. — Animaux traités d'abord par l'antibiotique et ensuite par la Mycostatine. Lot de 4 cobayes.

Comme pour la dichloroxyquinaldine, les animaux reçoivent de l'Auréomycine ou de la Terramycine jusqu'à ce que leur flore intestinale permette l'isolement et la caractérisation de C. albicans. A ce moment, on cesse d'administrer l'antibiotique et l'on instaure le traitement par la Mycostatine.

Sur 6 animaux mis en expérience, 2 meurent en cours de traitement par l'antibiotique. Seuls 4 cobayes peuvent être sélectionnés pour l'étude de la Mycostatine.

Cobaye n° 1 : 6 jours de traitement par la Terramycine.

Les levures ne sont apparues qu'au 6e jour, cependant, dès le 2e jour, la flore était franchement perturbée et se révélait

très pauvre. Lorsque nous avons commencé le traitement, au 7e jour, celle-ci était à peu près aseptisée ; d'autre part le cobaye, dont le poil était hérissé, refusait toute nourriture. L'animal meurt après 24 heures de traitement par la Mycostatine.

Courbe de croissance :

Départ	8 jours
505 g.	380 g.
+	
Terramycine	

Cobaye n° 2 : 10 jours de traitement par l'Auréomycine.

Effet de la Mycostatine :

après 4 jours : La flore demeure pauvre.
Diminution du nombre de levures.

après 6 jours : Flore plus abondante mais pauvre en germes gram positifs.
Plus de levures (culture négative pour C. albicans).

après 10 jours : Flore variée mais légèrement appauvrie par rapport à la flore primitive.

Courbe de croissance :

Départ	8 jours	10 jours	4 jours	11 jours
465 g.	360 g.	355 g.	360 g.	385 g.
+		+		
Auréomycine		Mycostatine		

Cobaye n° 3 : 12 jours de traitement par la Terramycine.

Effet de la Mycostatine :

Après 4 jours : Flore pauvre surtout en germes gram positifs.
Présence de levures ne se reproduisant plus.

Après 6 jours : Les rares levures encore visibles sont en dégénérescence (culture négative).

Après 8 jours : Flore encore appauvrie.
Plus de levures.

Courbe de croissance :

Départ	8 jours	12 jours	4 jours	8 jours
520 g.	470 g.	450 g.	450 g.	465 g.
+		+		
Terramycine		Mycostatine		

Cobaye n° 4 : 5 jours de traitement par la Terramycine.

Effet de la Mycostatine :

Après 48 heures : La flore est pauvre, mais augmentation de la flore gram négatif, la flore gram positif restant clairsemée.
Les levures sont nombreuses, mais se reproduisent moins souvent par bourgeonnement.

Après 5 jours : Flore très enrichie (moins abondante cependant qu'une flore normale), mais à prédominance gram négatif.
Levures en dégénérescence (culture négative sur milieu de Sabouraud).

Courbe de croissance :

Départ	5 jours	5 jours
430 g.	380 g.	370 g.
+	+	
Terramycine	Mycostatine	

LOT N° 5 : Animaux traités d'abord par l'Auréomycine et une suspension de C. albicans et ensuite par la Mycostatine. Lot de 2 cobayes.

Nous obtenons un résultat très comparable à celui donné par le Stérosan. L'infestation se montre très sévère. L'un des cobayes meurt au cours de l'antibiothérapie, l'autre après 24 heures de traitement par la Mycostatine.

LOT N° 6 : Animaux recevant en même temps l'antibiotique et la Mycostatine. Lot de 2 cobayes, avec 2 cobayes témoins.

Terramycine + Mycostatine

Après 48 heures : aucune modification de la flore.

Après 5 jours : diminution des gram positifs. La majorité de la flore est constituée par des gram négatifs. Flore nettement plus abondante que dans le lot témoin.

Pesée au bout de 8 jours.
515 g. — 445 g. (perte 70 g.)
510 g. — 435 g. (perte 75 g.)

La flore est toujours constituée en majorité par des bâtonnets gram négatifs. La flore cependant est abondante et sans levures.

Après 10 jours : Flore variée. Les germes gram positifs se font plus nombreux. Quelques levures.

Après 15 jours : Flore avec quelques rares levures dont la plupart sont en dégénérescence.

Pesée :
425 g. (perte 20 g.)
420 g. (perte 15 g.)

Après 21 jours : Flore assez riche avec prédominance des germes gram négatifs.

Il n'y a pas de levures.

Pesée :
455 g. (gain de 30 g.)
430 g. (gain de 10 g.)

Terramycine seule

Après 48 heures : appauvrissement de la flore assez sensible.

Après 5 jours : Flore très pauvre constituée presqu'uniquement de germes Gram négatifs.

Après 6 jours : apparition de levures chez le cobaye 1 :

Pesée au bout de 8 jours :
505 g. — 380 g. (perte 125 g.)
465 g. — 355 g. (perte 110 g.)

Après 9 jours : mort du cobaye 1.

Après 10 jours : le cobaye survivant (2) a une flore très pauvre avec de nombreuses levures.

LOT N° 8 : Animaux traités d'abord par la Mycostatine (pendant 5 jours), puis par la Terramycine (Lot A) ou par l'Auréomycine (Lot B).

Lot A : 2 cobayes.

Au bout de 3 jours : La flore demeure riche. On note cependant une légère diminution des germes gram positifs. Pas de levures.

Après 4 jours : Flore légèrement appauvrie. Quelques rares levures.

Il faut attendre le 13e jour (cobaye 1) pour obtenir une flore très appauvrie avec des levures bourgeonnantes ;

Le 9e jour (cobaye 2) pour arriver au même résultat.

Lot B : 1 cobaye.

Après 3 jours : Flore très variée, non perturbée. Quelques rares levures.

Après 4 jours : Levures plus nombreuses. Flore à légère prédominance gram négatif.

Il faut attendre le 12e jour pour obtenir une flore très appauvrie et présentant de nombreuses levures.

Courbe de croissance :

La perte de poids n'est sensible que vers le 14e jour. Les cobayes perdent, en moyenne 10 à 15 p. 100 de leur poids.

c) Conclusions :

1° *Action de la Mycostatine sur la flore intestinale normale :*

Le milieu intestinal semble bien tolérer la présence de la Mycostatine. Comme pour le Stérosan, la flore bactérienne demeure inchangée chez la majorité des cobayes. Un animal, cependant, présente une altération de la flore gram positive, accompagnée d'un fléchissement de la courbe de croissance. Un phénomène analogue avait été enregistré avec le Stérosan. On ne constate jamais la sélection de staphylocoques pathogènes.

2° *Action de la Mycostatine sur la moniliase provoquée :*

Le lot n° 5 (cobayes traités d'abord par l'antibiotique et une suspension de C. albicans puis par la Mycostatine) montre, à nouveau, qu'une infestation massive, dans nos conditions expérimentales, vient trop rapidement à bout de la résistance des animaux et ne permet pas une étude ultérieure de l'antifongique. En effet, les deux cobayes constituant ce groupe ont succombé l'un au cours de l'antibiothérapie, l'autre 24 heures après le début du traitement par la Mycostatine.

Le lot n° 4 (cobayes traités d'abord par l'antibiotique puis par la Mycostatine), en revanche, met en relief l'efficacité de l'antifongique. Chez les animaux ayant survécu à l'action de l'antibiotique, la Mycostatine provoque une diminution rapide du nombre des levures qui disparaissent en 6 à 8 jours. Parallèlement, la flore bactérienne se rétablit lentement, tandis que l'on constate un redressement de la courbe de croissance. On peut donc conclure à une très bonne activité de la Mycostatine sur la moniliase expérimentale.

3° *Effet préventif :*

La Mycostatine administrée en même temps que l'antibiotique, montre vis-à-vis de la flore intestinale, une action protectrice certaine. En effet, ainsi que le lot n° 6 (animaux recevant en même temps l'antibiotique et la Mycostatine) nous permet de le constater, les levures ne s'implantent jamais définitivement. Elles font une apparition passagère dans l'intestin et la prolongation du traitement les élimine.

Si l'on ne fait i gérer la Mycostatine que pendant 5 jours avant le début de l'antibiothérapie, le résultat se montre moins favorable (Lot n° 8) et l'on ne fait que retarder les troubles caractéristiques déjà décrits au sujet du groupe n° 3 (animaux recevant l'antibiotique seul).

En conclusion, un effet préventif ne peut être obtenu qu'en administrant simultanément l'antifongique et l'antibiotique.

CHAPITRE IV

ETUDE DE L'ACTION DES FERMENTS LACTIQUES

GENERALITES

Face aux accidents parfois très graves provoqués par l'antibiothérapie, les cliniciens se sont trouvés tout d'abord désarmés. En effet, les antifongiques que nous venons d'étudier n'ont fait leur apparition en thérapeutique que tout récemment. Dans l'intervalle, l'habitude fut prise de faire absorber aux malades diverses préparations microbiennes destinées à rétablir l'équilibre de la flore intestinale. Les ferments lactiques, les levures, divers bacilles aérobies et même les yoghourts connurent ainsi une vogue nouvelle. Cependant les résultats obtenus grâce à cette bactériothérapie menée de façon empirique, furent plus d'une fois décevants et nombreux sont les médecins qui délaissent actuellement les ferments lactiques au profit des tout derniers antifongiques.

Il rentre dans le cadre de notre travail de juger si cet abandon est pleinement justifié.

1. - Origines de la bactériothérapie intestinale :

C'est à ESCHERICH (28) que l'on doit les premiers essais de bactériothérapie intestinale reposant sur des données vraiment scientifiques. Ayant constaté l'appauvrissement en bactéries acidifiantes du milieu intestinal en proie aux putréfactions, ESCHERICH préconise, dès 1887, de faire absorber aux patients du lactose et des cultures bactériennes susceptibles de fermenter ce glucide en produisant de l'acide lactique.

Dans un but analogue, METCHNIKOFF se fait, au début du siècle, l'ardent propagandiste des ferments lactiques, auxquels il attribue un pouvoir antagoniste élevé vis-à-vis de la flore putréfiante.

Il est certain que, dans les milieux naturels riches en glucides, les bactéries acidifiantes s'opposent aux phénomènes de la putréfaction. Dans le lait, en particulier, les lactobacilles font normalement apparaître assez d'acide lactique pour interdire la prolifération des germes protéolytiques. Un lait cru coagule à la longue, mais le caillot ne s'altère pas. Un lait pasteurisé, en revanche, privé de ses ferments lactiques, se putréfie très rapidement.

Dans l'intestin, des mécanismes analogues entrent en jeu. L'étude de la flore fécale du nouveau-né est, à ce point de vue, tout à fait démonstrative. A la naissance, le méconium est stérile et le demeure pendant 12 à 15 heures. Ensuite, l'intestin desquamme et le tube digestif ayant été infecté, lors de l'accouchement, on assiste à un début de putréfaction intestinale. Dès que l'enfant absorbe le colostrum, très riche en lactose, les bacilles lactiques font leur apparition dans les selles qui se décolorent et perdent leur odeur putride.

De même chez l'adulte, dont l'alimentation est extrêmement variée, un bon fonctionnement intestinal exige un équilibre harmonieux entre les bactéries glucidolytiques acidifiantes et les bactéries protéolytiques alcalinisantes.

Basée sur ces constatations une bactériothérapie intestinale fut créée, reposant principalement sur l'absorption de ferments lactiques, de levures, ou de diverses espèces bactériennes saccharolytiques.

2. - Condition d'une bactériothérapie intestinale efficace :

Jusqu'à ces dernières années, les moyens techniques mis en œuvre ne permettaient guère de doter la bactériothérapie de toute l'efficacité souhaitable. Il est vrai que, jusqu'à l'avénement des antibiotiques, le problème des substitutions de la flore intestinale et de surinfections mycosiques ne se posait pratiquement pas. La bactériothérapie n'intervenait que dans les cas d'infections gastro-intestinales spontanées. On disposait alors de deux sortes de médicaments microbiens : les ferments tués et les ferments vivants.

Les ferments tués :

Se présentaient sous forme de poudres ou de comprimés de ferments lactiques. Les ferments, cultivés sur milieux liquides, étaient recueillis par centrifugation, mélangés à du lactose et desséchés à +40°C. dans une étuve à circulation d'eau stérile. La valeur thérapeutique de ces préparations était due en majeure partie au lactose. D'autres médicaments présentés en ampoules buvables, étaient constitués par les cultures elles-mêmes, soumises à la tyndallisation. Leur action bienfaisante provenait sans doute de leur teneur élevée en acide lactique, ainsi que des produits du métabolisme des germes, parfois doués d'un réel pouvoir antagoniste.

Les ferments vivants :

Présentés en ampoules buvables, ces ferments connurent une grande vogue et certains laboratoires pharmaceutiques persistent à en fabriquer. Il s'agit en général de cultures en milieu liquide, mises en ampoules aseptiquement et délivrées telles quelles dans le commerce.

L'expérience prouve que, malgré leur dénomination, ces préparations ne renferment presque plus de germes vivants après quelques mois ou même quelques semaines de conservation. En effet, de telles cultures arrivent forcément dans leur phase de déclin peu de temps après leur distribution en ampoules et le malade n'absorbe guère que des microorganismes morts avec quelques rares cellules proliférantes. Une fois encore, l'activité de ces médicaments réside moins dans les ferments eux-mêmes que dans leurs produits de métabolisme : acide lactique ou substances antagonistes.

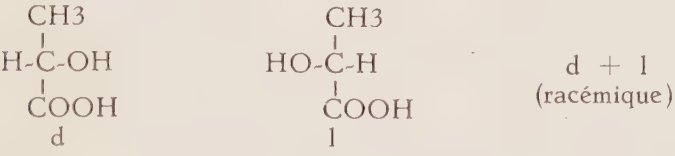
Les ferments lyophilisés :

Le procédé de la lyophilisation permet à l'heure actuelle d'administrer au malade des ferments lactiques réellement vivants. Les préparations ainsi obtenues doivent leur efficacité non seulement aux produits du métabolisme des germes, mais encore à l'introduction, dans le milieu intestinal, de bactéries activement proliférantes. La lyophilisation permet enfin à la bactériothérapie de sortir de l'ornière et constitue un progrès décisif dans la recherche d'une efficacité toujours plus grande. Si l'on prend soin de lyophyliser les germes lorsque la culture se trouve en phase de croissance active (phase exponentielle), on est assuré, en réhydratant le produit au moment de l'emploi, d'obtenir immédiatement une suspension microbienne qui renferme à peu près autant de germes vivants que la culture primitive.

3. - Choix des ferments lactiques :

On désigne sous le nom de « ferments lactiques » différents microorganismes appartenant à des genres variés, mais possédant le caractère commun de fermenter divers glucides avec production d'acide lactique. C'est un groupe très hétérogène car, selon le microorganisme considéré, la fermentation n'intéresse que tel ou tel glucide. Le rendement en acide lactique,

d'autre part, peut varier de 10 à 95 p. 100 et peut consister soit en acide droit, soit en acide gauche, soit en racémique.



La classification généralement admise est celle d'Orla Jensen qui a créé la famille des Lactobactériacées dans laquelle rentrent toutes les bactéries produisant de l'acide lactique par fermentation des glucides.

Un critère morphologique permet de distinguer 2 tribus :

— *Streptococcées* : formes sphériques
— *Lactobacillées* : formes en bâtonnets

} immobiles, Gram positifs, non sporulées.

Parmi les Streptococées, il faut citer : Streptococcus lactis, toujours présent dans le lait, dont il provoque la coagulation naturelle. Streptococcus cremoris qui produit une saveur spéciale recherchée dans le beurre et les fromages.

Parmi les lactobacillées :

— Lactobacillus lactis : présent dans les produits laitiers.

— Lactobacillus caucasicus : du Kéfir.

— Lactobacillus acidophilus : dans l'intestin des enfants allaités et des adultes consommant beaucoup de lait ou de lactose.

— Lactobacillus fibidus : dans l'intestin des enfants nourris au sein (anaérobies).

— Lactobacillus bulgaricus : du Yoghourt (avec S. lactis) (hermophile).

— Lactobacillus thermophilus : dans le lait pasteurisé (thermophile).

Parmi ces nombreuses espèces microbiennes toutes dépourvues de pouvoir pathogène, comment exercer un choix ? Il semble qu'un produit microbien destiné à la bactériothérapie intestinale doive répondre aux normes suivantes :

1° Le microorganisme doit être choisi parmi les espèces se trouvant à l'état normal dans la flore intestinale.

2° Absorbé per os, il doit pouvoir résister au contact de l'acidité du suc gastrique.

3° Son métabolisme doit être celui d'un anaérobie facultatif ou d'un microaérophile, afin de lui donner la possibilité de proliférer dès son arrivée dans l'intestin.

Ces conditions se trouvent remplies par Lactobacillus acidophilus, qui est un hôte habituel de la flore intestinale. C'est, de plus, un germe microaérophile et acidophile résistant parfaitement au contact de l'acidité gastrique.

4. - Facteurs adjuvants de la bactériothérapie :

— La flore acidophile ne se développant qu'en présence de glucides fermentescibles, il est indiqué de faire absorber au malade, en même temps que les ferments lactiques, une certaine quantité de lactose ou de glucose, qui aidera l'implantation des germes dans le milieu intestinal.

— Les bacilles lactiques exigent, pour se développer, divers facteurs de croissance, dont certains sont bien connus : ce sont les vitamines du groupe B (B_1, B_2 B_6, acide panthothénique, vitamine PP) et d'autres restent encore à identifier (facteurs de croissance présents dans l'extrait de tomate ou dans le jus d'orange). Dans le milieu intestinal ayant subi les substitutions en chaîne de la flore fécale, les vitamines du groupe B font défaut (elles étaient synthétisées par des espèces bactériennes disparues). Il faut donc, avec les ferments lactiques, administrer ces vitamines et ces facteurs de croissance si l'on veut assurer à la bactériothérapie une efficacité totale.

— Au cours de la préparation des bactéries lyophilisées, on rejette, en grande partie, le milieu de culture liquide (les cultures en milieu liquide sont centrifugées et le culot est remis en suspension dans une partie du surnageant. Ce milieu renferme pourtant les produits du métabolisme des germes, parmi lesquels, l'acide lactique, au moins, joue un rôle bienfaisant sur les désordres intestinaux. Il est donc indiqué de conserver ce milieu de culture, et de l'utiliser pour réhydrater le lyophilisat au moment de son emploi. On peut le répartir en ampoules, soumises à la tyndallisation.

— On pense parfois augmenter l'activité thérapeutique d'une préparation bactérienne en utilisant une souche douée d'un grand pouvoir antagoniste vis-à-vis des bactéries putréfiantes. Ainsi utilise-t-on le Bacillus subtilis qui secrète certaines substances à activité antibiotique (subtiline, subtilisine...). Or tout le désordre intestinal vient en général de l'absorption d'antibiotiques et ce n'est certainement pas une bonne opération que d'en faire absorber encore davantage par le malade.

— De même certains pensent qu'il est bon d'utiliser des souches microbiennes hautement résistantes aux divers antibiotiques (souches sélectionnées, souches entraînées en présence d'antibiotiques). A première vue, cette idée semble juste : si l'on veut que le ferment lactique s'implante dans un intestin renfermant une forte concentration d'antibiotique, il est nécessaire de choisir une souche résistante à cet antibiotique.

En fait, ce calcul est mauvais, pour plusieurs raisons :

1° La résistance acquise est un caractère souvent labile et il est très difficile de fixer une souche microbienne à un degré déterminé de résistance.

2° La résistance aux antibiotiques semble due, le plus souvent, à une modification héréditaire de la cellule bactérienne, c'est en quelque sorte une mutation provoquée. Or, on a observé que des bactéries résistantes, tuées par la chaleur et lysées, laissaient diffuser des substances solubles capables d'instaurer

la résistance chez d'autres bactéries vivantes, vis-à-vis du même antibiotique, et bien que ces bactéries vivantes n'aient jamais été au contact de cet antibiotique.

On risque donc, en administrant des bactéries résistantes, de libérer dans le milieu intestinal, des substances qui provoqueront la résistance généralisée de toute la population bactérienne, et dès lors, les antibiotiques ne pourront plus agir contre les germes pathogènes.

Dans cet ordre d'idées, le meilleur facteur adjuvant consiste à utiliser une souche de bacilles *indifférents* aux antibiotiques. De cette façon, ces bacilles s'implantent aisément dans l'intestin, mais ne peuvent libérer de substances dangereuses.

RECHERCHES EXPERIMENTALES

1. - Mode de préparation des ferments :*

On peut distinguer 4 stades principaux dans le mode de préparation des ferments utilisés au cours de cet essai :

1) Sélection de la souche de Lactobacillus acidophilus indifférente aux principaux antibiotiques.

2) Passage successifs sur des cobayes traités, per os, par ces mêmes antibiotiques et isolements successifs de la souche par coproculture.

3) Culture de la souche sélectionnée sur milieu nutritif spécial, enrichi de facteurs de croissance spécifiques.

4) Lyophilisation en phase logarithmique, après addition de vitamines hydrosolubles du groupe B.

---

* Nous remercions vivement les Laboratoires Français de Thérapeutique qui ont bien voulu préparer les Lyophilisats utilisés au cours de nos expériences.

Nous envisagerons successivement la description de ces quatre stades constituant le mode de préparation du produit.

a) Selection de la souche de lactobacillus acidophilus :

La souche est tout d'abord isolée de la flore fécale d'un individu adulte par la technique classique des coprocultures, précédée d'une purification par passage en bouillon acide (0,5 p. 100 d'acide acétique).

Le milieu d'isolement répond à la formule suivante :

— Lait peptonisé ..... 600 cm³
— Jus de tomate filtré ..... 200 cm³ } ce milieu
— Glucose ..... 5 g. est ajusté à
— Difco Nutrient Agar ..... 25 g. } pH = 6
— Eau distillée ..... 200 cm³

Entre 24 et 48 heures après la mise à l'étuve, on voit se former sur ce milieu les colonies caractéristiques du L. acidophilus : rondes, surélevées, incolores, de 0,5 à 1 mm. de diamètre.

Une colonie typique est prélevée, on l'émulsionne dans l'eau stérile et l'on vérifie les caractères généraux du ferment.

a) par examen direct au microscope, entre lame et lamelle, on observe des bacilles allongés, isolés ou groupés en chaînettes, immobiles.

b) par coloration de divers frottis, on met en évidence :
— des bacilles Gram positifs,
— non acido-alcoolo résistants,
— non sporulés.

Ce premier isolement est purifié par ensemencement en stries croisées sur un nouveau milieu solide. On procède alors à la caractérisation biologique et biochimique de la souche. Trois espèces de lactobacilles peuvent se rencontrer dans l'intestin de l'adulte. On trouvera rassemblés au tableau III, les caractères biologiques différentiels de ces souches.

Tableau III

Especes	Metabolisme	Temperature optimum de développement	Temperature d'arrêt des cultures
L. acidophilus	aérobie microaerophile	37°	20° et 48°
L. bifidus	anaerobie strict	37°	20° et 48°
L. bulgaricus	anaerobie facultatif	45°	35° et 55°

On considère donc comme appartenant à l'espèce acidophilus les lactobacilles cultivant en aérobiose, mais dont la prolifération est inhibée soit à +20° soit à +48°C.

Ces tests biologiques sont complétés par deux recherches biochimiques :

— Recherche de l'Indole : négative.

— Recherche du dégagement d'hydrogène sulfuré : négative.

Essai de la sensibilité aux antibiotiques :

Parmi les différentes souches de L. acidophilus ainsi isolées, on retient celle qui manifeste la sensibilité la plus faible aux divers antibiotiques à large spectre. Lactobacillus acidophilus se montre en général sensible à ces substances. Il existe cependant des souches naturellement résistantes cultivant en présence de concentration élevée d'antibiotique, et d'autres que l'on peut appeler « indifférentes », car elles cultivent dans le voisinage immédiat des disques de l'antibiogramme, mais il se ménage toujours une légère zone d'inhibition au contact direct de ces disques.

Ce sont précisément de tels ferments qui, nous l'avons vu plus haut, doivent être sélectionnés. On y parvient aisément en soumettant les diverses souches à la technique des antibiogrammes.

b) Passages successifs chez le cobaye :

Il peut exister un écart notable entre la sensibilité aux antibiotiques mesurée in vitro, et la sensibilité de la même souche aux mêmes antibiotiques in vivo. Afin de ne pas négliger l'éventualité d'une telle variation, il faut vérifier le comportement des ferments in vivo, en les administrant à des cobayes traités par les divers antibiotiques.

La technique se résume ainsi : trois cobayes A, B, C, reçoivent des doses journalières de Terramycine, d'Auréomycine, et de Chloramphénicol correspondant à la posologie humaine.

Le cobaye A, traité par la Terramycine voit sa flore fécale considérablement perturbée après quelques jours de traitement. A ce moment, et tout en continuant à administrer l'antibiotique, on fait absorber à l'animal 0,5 cm^3 d'une suspension renfermant 500 millions de L. acidophilus vivants. Dès le lendemain, on retrouve une grande quantité de Lactobacilles dans les matières fécales. On pratique un isolement, une coproculture, et l'on effectue les opérations d'identification déjà citées plus haut.

Cette souche de L. acidophilus est alors administrée au cobaye B, que l'on a préparé à l'aide d'Auréomycine. Un nouvel isolement s'ensuit, et la souche passe ensuite chez le cobaye C, traité par le Chloramphénicol.

On réalise ainsi une série de passage des ferments sur des animaux traités par les antibiotiques, ce qui permet en fin de compte d'affirmer que la souche sélectionnée se montre indifférente à ces substances, non seulement in vitro, mais encore dans le milieu intestinal. On vérifie, par un dernier antibiogramme, que les Lactobacilles ne présentent pas de résistance anormalement élevée.

c) Culture des ferments sur milieu special :

On utilise, à ce stade, un milieu liquide, amené à pH = 6 et répondant à la formule suivante :

Lait peptonisé	600 cm³
Jus d'orange filtré	200 cm³
Glucose	5 g.
Peptone	10 g.
Eau distillée	200 cm³

Le jus d'orange apporte à ce milieu certains facteurs de croissance essentiels aux ferments. On ensemence abondamment et l'on fait incuber à 37°C.

d) Lyophilisation :

Entre 12 heures et 18 heures après l'ensemencement, on ajoute aux cultures un mélange des vitamines du groupe B dans les proportions suivantes.

Pour 100 cm³ de culture :

Vitamine B1	0,02 g.
Vitamine B2	0,003 g.
Vitamine PP	0,02 g.
Acide panthoténique	0,005 g.
Vitamine B12	0,0001 g.

Après centrifugation, on prélève 75 p. 100 du liquide surnageant et l'on remet les germes en suspension dans le liquide résiduel. On procède alors à la lyophilisation dans les conditions habituelles. Quant au surnageant, on le répartit en ampoules que l'on soumet à la tyndallisation.

2. - Action des lactobacilles sur le cobaye :

a) Considerations generales sur le protocole experimental :

Constitution des différents lots d'animaux :

LOT N° 1 : animaux traités par les Lactobacilles en suspension aqueuse, puis par la Terramycine associée aux Lactobacilles.

LOT N° 2 : animaux traités par les Lactobacilles en suspension aqueuse et par les levures.

LOT N° 3 : animaux traités d'abord par les antibiotiques puis par les Lactobacilles.

LOT N° 4 : animaux traités par le mélange Terramycine plus Lactobacilles (sur milieu de culture tyndallisé).

LOT N° 5 : animaux traités par les Lactobacilles (milieu de culture tyndallisé), puis par la Terramycine.

Posologie:

Un flacon de lyophilisat de Lactobacilles est réhydraté soit par 5 cm^3 d'eau, soit par 5 cm^3 de milieu tyndallisé. On administre 1 cm^3 de cette suspension à chaque cobaye, ce qui correspond à un minimum de 200 millions de germes vivants.

b) Comportement des differents lots d'animaux :

LOT N° 1 : Animaux recevant les Lactobacilles pendant 5 jours, puis un mélange de Lactobacilles et de Terramycine (Lot de 2 cobayes). Nous utilisons pour cette expérience les Lactobacilles lyophilisés remis en suspension aqueuse.

Flore intestinale :

Après 4 jours de traitement par les Lactobacilles,, on ne constate aucune modification importante de la flore fécale (légère augmentation du nombre des Lactobacilles).

Après 3 jours de traitement par l'association Terramycine+ Lactobacilles, la flore demeure riche.
Apparition de quelques rares levures parfois (mais rarement) en voie de reproduction.

Au 5° jour : La flore demeure assez riche. On note toutefois une légère diminution quantitative du nombre des bactéries. Assez grand nombre de levures.

Au 8e jour : La flore demeure assez riche mais avec légère prédominance des germes gram négatifs.
Levures en assez grande quantité.

Au 10e jour : La flore reste riche.
Levures nombreuses.

Au 12e jour : Flore riche avec cependant prédominance des germes gram négatifs.
Levures très nombreuses.

Courbe de croissance :

Départ	5 jours	6 jours	12 jours
530 g.	535 g.	465 g.	450 g.
500 g.	510 g.	445 g.	465 g.
+	+		
	+ Lactobacilles		
Lactobacilles	Terramycine		

LOT N° 2 : Animaux recevant des Lactobacilles et des levures en suspension aqueuse : Lot A (2 cobayes).

Animal recevant une suspension de C. albicans seule. Lot B (1 cobaye).

Flore intestinale :

Après 48 heures : Lot A : pas de levures.
Lot B : quelques levures.

Après 4 jours : Lot A : Flore riche ; pas de levures.
Lot B : Flore riche, quelques levures.

Au 5 jour : Lot A : Apparition de quelques levures.

Au 10e jour : Lot A : Flore riche, levures peu nombreuses.
Lot B : Flore riche, levures nombreuses.

La comparaison des 2 lots montre que les levures semblent s'implanter avec difficulté en présence de lactobacilles.

Courbe de croissance :

	Départ	6 jours	12 jours
Lot A	500 g.	495 g.	520 g.
	490 g.	470 g.	495 g.
Lot B	380 g.	365 g.	325 g.

LOT N° 3 : Animaux traités d'abord par l'antibiotique, puis par les Lactobacilles en suspension aqueuse (Lot de 2 cobayes).

Les animaux reçoivent l'antibiotique jusqu'à ce que leur flore intestinale permette l'isolement et la caractérisation de C. albicans. A ce moment, on cesse d'administrer l'antibiotique et l'on instaure le traitement par les Lactobacilles.

Cobaye n° 1 : 12 jours de traitement par la Terramycine.

Effet des Lactobacilles :

Après 48 heures : Flore pauvre, quelques Lactobacilles.
Très grand nombre de levures en voie de reproduction. Certaines sont entourées d'une gaine de Lactobacilles.

Après 3 jours : Flore assez abondante.
grand nombre de levures.

Après 4 jours : Flore très riche et variée.
Nombreuses levures.

Après 7 jours : Flore très abondante.
Levures moins nombreuses, souvent entourées d'une gaine de Lactobacilles et parfois en dégénérescence.

Pendant les jours qui suivent, nous retrouvons toujours une flore riche et variée. Les levures sont toujours présentes, moins nombreuses toutefois.

Cobaye n° 2 : 7 jours de traitement par la Terramycine.

Effet des Lactobacilles :

Après 48 heures de traitement : mort du cobaye.

Courbe de croissance :

Cobaye 1 —

départ	7 j.	9 j.	12 j.	2 j.	7 j.	10 j.
490 g.	420 g.		390	390	405	420
			+			
			Lactobacilles			

Cobaye 2

départ	7 j.	9 j.
445 g.	390 g.	375 +
	+	
	Lactobacilles	

LOT N° 4 : Animaux recevant en même temps l'antibiotique et les Lactobacilles dans le milieu de culture tyndallisé. Lot de 2 cobayes.

Traitement d'entrée par la Terramycine.

Différence avec le lot n° 1 :
Lactobacilles administrés dans le milieu de culture tyndallisé.

Signalons que la flore de départ de ces deux animaux comporte quelques levures.

Flore intestinale :

Après 24 heures : La flore ne présente aucun changement. Quelques levures ; beaucoup d'entre elles sont entourées d'une gaine de Lactobacilles.

Après 3 jours : Flore très riche et variée ; grand nombre de Lactobacilles (plus nombreux que dans la flore du lot n° 1, où l'on avait administré les Lactobacilles en suspension aqueuse). Quelques levures.

Après 6 jours : La flore demeure riche et bien équilibrée. Levures assez nombreuses.

Pendant la seconde semaine, la flore reste équilibrée (très grand nombre de Lactobacilles). Nous trouvons toujours des levures parfois entourées d'une gaine de Lactobacilles.

Courbe de croissance :

Départ	7 jours	15 jours
465 g.	470 g.	490 g.
435 g.	455 g.	520 g.

LOT N° 5 : Animaux soumis à un traitement par les Lactobacilles (10 jours) et ensuite par la Terramycine : Lot de 5 cobayes.

Cobayes 1, 2, 3 : administration des Lactobacilles en suspension aqueuse.

Cobayes 4, 5 : administration des Lactobacilles dans le milieu de culture tyndallisé.

Cobaye 1 :

Flore intestinale (effet de la Terramycine) :

Après 48 heures : Flore riche et variée.
Pas de levures.

Après 4 jours : Flore riche et variée.
Pas de levures.

Après 6 jours : Flore toujours très riche.
Quelques levures.

Après 8 jours : Flore riche ; grand nombre de Lactobacilles. Ceux-ci, indifférents aux antibiotiques, demeurent dans la flore, ce qui explique sa lenteur à s'appauvrir.
Quelques levures.

Après 10 jours : Léger appauvrissement de la flore (les Lactobacilles demeurent nombreux).
Quelques levures en voie de reproduction.

Après 12 jours : Flore surtout riche en germes gram négatifs (Il y a une légère diminution du nombre des Lactobacilles).
Levures nombreuses ; certaines se reproduisent.

Après 15 jours : Flore pauvre et surtout constituée de germes gram négatifs.
Nombreuses levures.

Courbe de croissance :

Départ	10 jours	6 jours	15 jours
460 g.	515 g.	480 g.	450 g.
+	+		
Lactobacilles	Terramycine		

Cobaye 2 :

Flore intestinale :

Après 48 heures : Flore riche et variée.
Pas de levures.

Après 4 jours : Léger appauvrissement de la flore.
Quelques levures.

Après 6 jours : Flore à prédominance gram négatif.
Quelques levures.

Après 8 jours : Flore pauvre.
Quelques levures entourées parfois d'une gaine de Lactobacilles.

Après 10 jours : Flore pauvre ; quelques Lactobacilles.
Quelques levures.

Après 12 jours : Flore constituée surtout par des germes gram négatifs.
Quelques levures.

Après 15 jours : Flore pauvre, forte majorité des germes gram négatifs.
Assez nombreuses levures.

Courbe de croissance :

Départ	10 jours	6 jours	15 jours
465 g.	495 g.	405 g.	395 g.
+	+		
Lactobacilles	Terramycine		

Cobaye 3 :

Flore intestinale :

Après 48 heures : Diminution du nombre des Lactobacilles.
Pas de levures.

Après 4 jours : Flore assez riche, assez bien équilibrée.
Apparition de quelques levures.

Après 6 jours : Flore toujours bien équilibrée.
Nombreuses levures, souvent entourées d'une gaine de Lactobacilles.

Après 8 jours : Flore riche.
Quelques levures.

Après 10 jours : Flore inchangée.
Nombreuses levures souvent entourées d'une gaine de Lactobacilles.

Après 12 jours : Flore très légèrement appauvrie.
Nombreuses levures.

Après 15 jours : Flore légèrement appauvrie.
Nombreuses levures.

Courbe de croissance :

Départ	10 jours	6 jours	15 jours
400 g.	420 g.	430 g.	455 g.
+	+		
Lactobacilles	Terramycine		

Cobayes n° 4 *et* 5 :

Flore fécale :

Après 48 heures : Flore riche et variée.
Pas de levures.

Après 4 jours : Flore riche.
Présence de quelques levures parfois entourées d'une gaine de Lactobacilles, parfois en dégénérescence.

Après 6 jours : Flore riche avec de nombreux Lactobacilles Quelques levures se reproduisant parfois par bourgeonnement.

Après 8 jours : La flore s'appauvrit légèrement ; les Lactobacilles demeurent nombreux.
Assez grand nombre de levures, bien souvent entourées d'une gaine de Lactobacilles.

Après 10 jours : Flore perturbée à prédominance gram négatif. Les germes Gram positifs ne sont plus guère représentés que par les Lactobacilles. Levures assez nombreuses.

Après 15 jours : Bien que perturbée, la flore demeure assez riche. Elle est constituée de germes gram négatifs et de Lactobacilles.
Les levures sont nombreuses, bourgeonnantes et parfois entourées de Lactobacilles.

Courbe de croissance :

Départ	10 jours	6 jours	15 jours
450 g.	500 g.	490 g.	480 g.
480 g.	520 g.	520 g.	480 g.
+	+		
Lactobacilles	Terramycine		

c) Conclusions :

Les expériences que nous venons de décrire, permettent d'établir deux faits différents :

D'une part les ferments lactiques exercent sur la flore intestinale une action protectrice vis-à-vis des troubles provoqués habituellement sur celle-ci par les antibiotiques.

D'autre part, en ce qui concerne plus spécialement la moniliase intestinale, ces ferments, s'ils ne permettent ni de l'éviter, ni de la faire disparaître, semblent cependant en réduire les effets.

1° *Action sur la flore bactérienne intestinale :*

Nous distinguerons deux groupes de résultats, selon que les ferments exercent une action préventive ou curative.

Action préventive :

Ici encore, deux sortes de conclusions peuvent être tirées, selon que les ferments agissent seuls ou en compagnie de leurs produits de métabolisme.

Le lot n° 1, dans lequel les ferments lactiques sont administrés en suspension aqueuse pendant cinq jours présente, après huit jours d'antibiothérapie, et malgré la poursuite de la bactériothérapie, un léger déséquilibre en faveur des germes gram négatifs. Ce déséquilibre, qui persiste sans s'accentuer, indique une action protectrice moyenne.

Le lot n° 5 où l'on fait ingérer pendant 10 jours les Lactobacilles avec leurs produits de métabolisme, est beaucoup mieux protégé, bien que l'antibiotique ait été administré seul pendant la seconde partie de l'expérience.

On pourrait estimer que cette protection qui s'étend sur une durée de 12 jours, résulte d'une plus longue préparation des animaux (10 jours de bactériothérapie au lieu de 5).. Le lot n° 4 montre que ce facteur n'est nullement primordial. En effet, les animaux de ce lot, qui reçoivent simultanément l'antibiotique et les ferments lactiques, présentent une flore riche et équilibrée pendant les 15 jours d'observation. Le rôle joué par les produits du métabolisme apparaît donc clairement dans l'implantation de la flore lactique protectrice.

Action curative :

Une flore perturbée redevient rapidement normale, même si les Lactobacilles sont administrés en suspension dans l'eau. Quatre jours après l'arrêt de l'antibiothérapie, les animaux du lot n° 3 montrent à nouveau une flore riche et variée.

Au cours de ces diverses expériences, il faut noter la présence souvent abondante de bacilles lactiques proliférants dans la

flore fécale. L'implantation de ces germes est donc bien réelle. En outre, l'état général des cobayes reste toujours excellent, tandis que les témoins, on s'en souvient, ne résistent que peu de jours à l'antibiothérapie.

En conclusion, les Lactobacilles exercent sur la flore bactérienne intestinale, une action nettement favorable ayant un retentissement direct sur l'état général des animaux.

2° *Action sur la moniliase intestinale :*

Quel que soit le mode d'administration des Lactobacilles (avant, pendant ou après l'antibiothérapie), on constate chez l'ensemble des animaux, la présence de cellules de levures. Toutefois, ces levures ne prennent jamais le dessus parmi la flore fécale et il faut, sans doute, interpréter ce fait, comme résultant d'un certain pouvoir antagoniste exercé par les ferments. Souvent, on constate, en effet, que le C. albicans est recouvert d'une véritable gaine, plus ou moins épaisse, de bacilles lactiques, phénomène déjà constaté par YOUNG (100). S'agit-il d'un antagonisme réel ou, au contraire, d'un état de synergie ? A notre avis, la première hypothèse semblerait mieux en rapport avec les résultats de nos essais.

Il se dégage de ces expériences au moins une conclusion pratique : bien que les ferments lactiques ne détruisent pas de manière spectaculaire le C. albicans, leur administration est à conseiller fortement, car leur action protectrice sur la flore intestinale interdit aux levures pathogènes d'exercer leurs effets néfastes. Les tableaux 4, 5, 6 dans lesquels se trouvent condensées les variations de poids des différents lots d'animaux, illustrent de façon encore plus concrète l'action des Lactobacilles comparée à celle des antifongiques. Administrés seuls, les ferments lactiques ne modifient pas la courbe de croissance qui demeure identique à celle des témoins (tableau 6). Associés à l'antibiothérapie, ils protègent si bien la flore intestinale que, malgré la présence de levures, la courbe de croissance redevient

parallèle à celle des cobayes témoins. Quant aux antifongiques, s'ils présentent une action plus spécifique sur le C. albicans, ils n'agissent pas de façon aussi favorable sur la croissance des animaux (Tableaux 4 et 5).

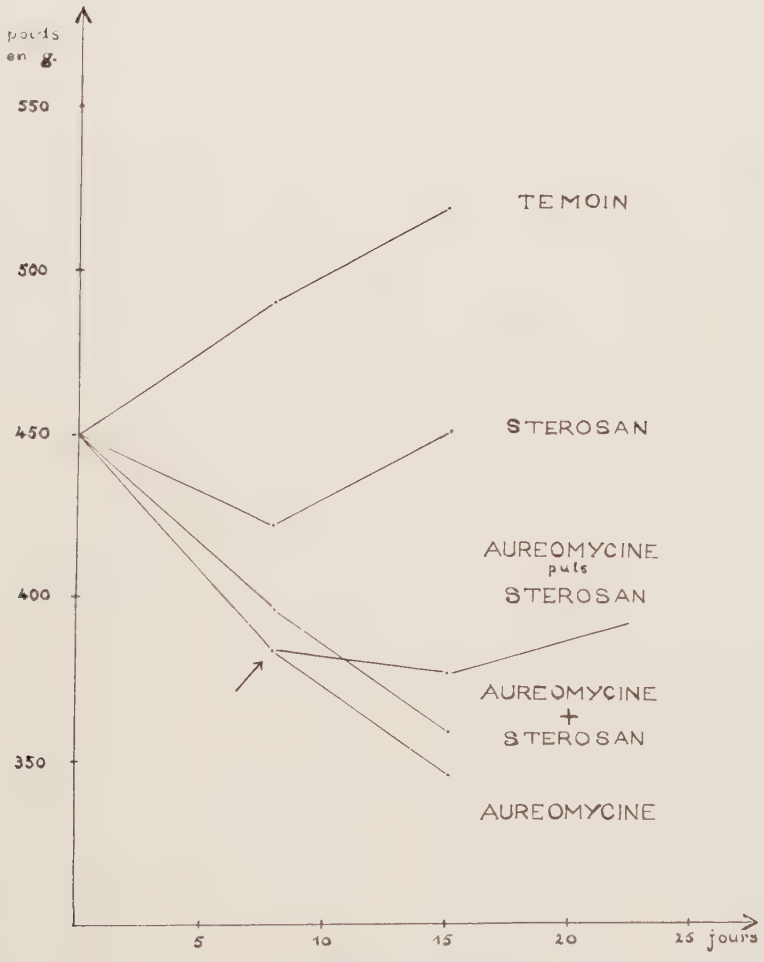


TABLEAU IV

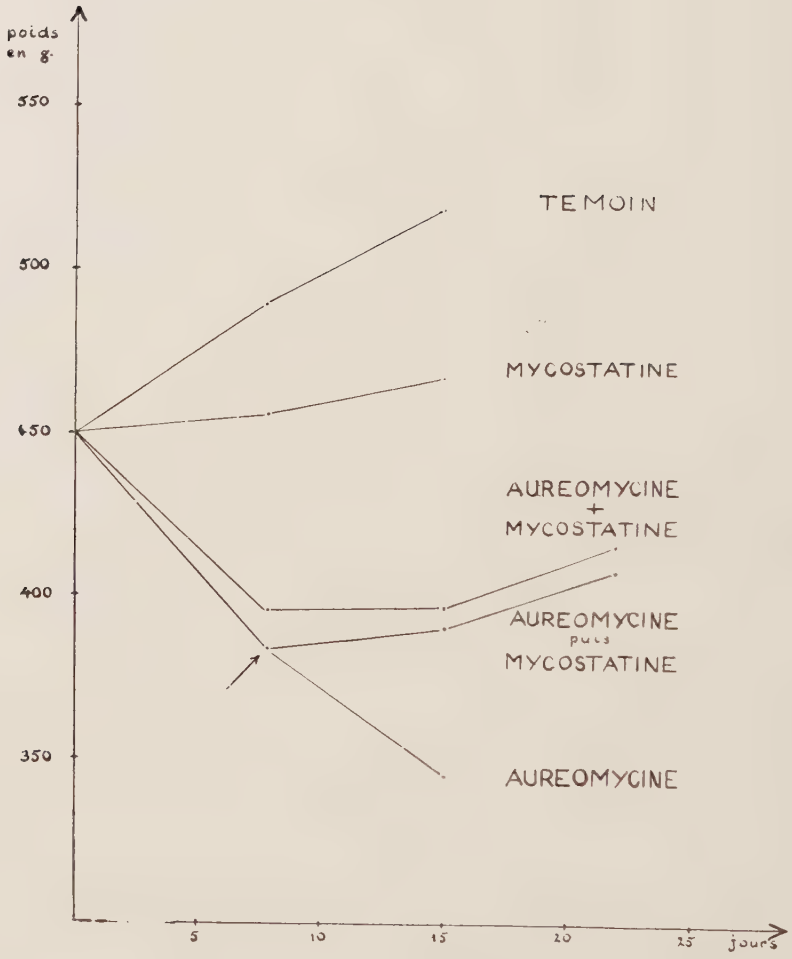

poids
en g.
550
500
450
400
350
TEMOIN
MYCOSTATINE
AUREOMYCINE
+
MYCOSTATINE
AUREOMYCINE
puis
MYCOSTATINE
AUREOMYCINE
5
10
15
20
25
jours

TABLEAU V

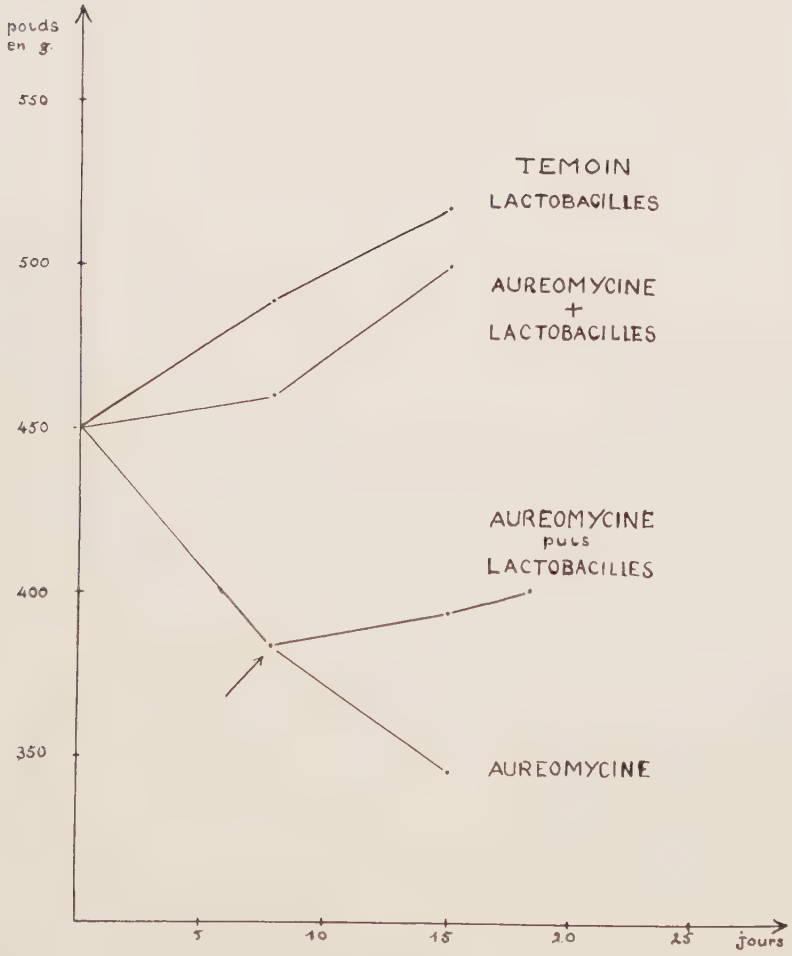

poids
en g.
550
500
450
400
350
TEMOIN
LACTOBACILLES
AUREOMYCINE
+
LACTOBACILLES
AUREOMYCINE
puis
LACTOBACILLES
AUREOMYCINE
5
10
15
20
25
jours

TABLEAU VI

CHAPITRE V

ESSAIS DE L'ASSOCIATION LACTOBACILLES-ANTIFONGIQUES

Les expériences précédentes permettent d'attribuer aux Lactobacilles une action protectrice certaine sur la flore intestinale, tandis que les antifongiques se montrent surtout actifs contre le C. albicans. Le traitement de la moniliase intestinale doit, de toute évidence, porter non seulement sur la destruction de l'agent pathogène, mais encore sur la protection ou le rétablissement de la flore fécale primitive. On peut donc songer que l'association Lactobacilles-Antifongique puisse réaliser une synergie particulièrement favorable à la thérapeutique de la moniliase.

Nous avons donc entrepris deux séries d'essais en associant aux Lactobacilles, soit le Stérosan, soit la Mycostatine.

1°) Association Lactobacilles-Sterosan (2 cobayes) :

Deux cobayes ont reçu de la Terramycine jusqu'à ce que l'on puisse déceler C. albicans dans leur flore fécale. A ce moment, on arrête l'antibiothérapie et l'on instaure le traitement par l'association Lactobacilles-Stérosan (posologie habituelle pour chacun des constituants).

Flore fécale :

Après 48 heures : La flore présente déjà un grand nombre de Lactobacilles.
Nombreuses levures.

Après 4 jours : La flore s'enrichit en Lactobacilles.
Légère diminution du nombre des levures.

Après 6 jours : La flore ne s'est guère modifiée.

Après 8 jours : Flore riche.
Quelques levures.

Après 10 jours : Flore riche.
Les levures sont rares et souvent en dégénérescence.

Courbe de croissance :

Départ	10 jours	5 jours	10 jours
520 g.	420 g.	420 g.	435 g.
490 g.	425 g.	415 g.	430 g.
+	+		
Terramycine	Lactobacilles + Stérosan		

2°) Association lactobacilles-mycostatine (2 cobayes) :

Nous avons suivi exactement le même protocole expérimental que pour l'association Lactobacilles-Stérosan.

Flore fécale :

Après 48 heures : Flore déjà enrichie. L'un des deux cobayes surtout, présente un grand nombre de Lactobacilles. Levures nombreuses souvent entourées d'une gaine de Lactobacilles.

Après 4 jours : Flore très riche.
Quelques levures.

Après 6 jours : Flore riche. Signalons que la flore de ce lot est plus abondante que celle du lot précédent.

Levures parfois entourées de Lactobacilles parfois en dégénérescence.

Après 7 jours : Disparition des levures chez l'un des deux cobayes.

Après 10 jours : Flore très riche et variée.
Levures absentes (cobaye 1).
Extrêmement rares (cobaye 2).

Courbe de croissance :

Départ	10 jours	5 jours	10 jours
485 g.	450 g.	485 g.	510 g.
455 g.	440 g.	450 g.	490 g.
+	+		
Terramycine	Lactobacilles + Mycostatine		

3° Conclusions :

Si l'on se réfère aux expériences du chapitre III, relatives à l'action des antifongiques utilisés seuls, on voit que leur association avec les Lactobacilles doit être vivement conseillée. En effet, ces derniers apportent aux antifongiques le complément thérapeutique qui leur fait défaut, à savoir une protection ou une restauration rapide de la flore intestinale. Quatre jours après le début du traitement par cette association, les cobayes présentent une flore très riche et bien équilibrée. On se souvient qu'il fallait parfois jusqu'à 15 jours pour obtenir un résultat analogue avec les antifongiques utilisés seuls.

Les cobayes traités par l'association Lactobacilles-Mycostatine présentent d'emblée une flore riche en ferments lactiques. Le lot recevant le Stérosan montre un léger retard dans l'implantation de ces germes dont certains semblent quelque peu altérés. Supposant une action antagoniste du Stérosan vis-à-vis des bacilles lactiques, nous avons effectué quelques essais in vitro qui nous ont montré qu'en effet cet antifongique, à des concentrations élevées, inhibe partiellement les cultures de L. acidophilus. La Mycostatine ne présente pas cet inconvénient.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Le traitement de la Moniliase intestinale repose à l'heure actuelle sur l'emploi de diverses substances antifongiques synthétiques (Stérosan) ou naturelles (Mycostatine).

Sans préjuger du mode d'action de ces substances, on peut se demander si les effets qu'elles produisent dans le milieu intestinal favorisent pleinement un retour de la flore à l'état normal. Principalement observée à la suite de l'antibiothérapie, la Moniliase intestinale apparaît en effet de plus en plus comme le résultat d'un déséquilibre profond dans la population microbienne de l'intestin. Le meilleur antifongique sera donc celui qui, tout en chassant l'agent pathogène, entraînera une restauration rapide de la flore. La moniliase expérimentale du cobaye nous a permis d'étudier avec soin le comportement de ces deux antifongiques vis-à-vis du milieu intestinal.

La 5-7 dichloroxyquinaldine exerce une action mycostatique assez satisfaisante se traduisant soit par un effet curatif souvent rapide, soit par un effet préventif moins spectaculaire. De son côté, la Mycostatine se montre très active sur la moniliase expérimentale et débarrasse rapidement l'intestin des levures pathogènes. Employée préventivement, cette substance s'oppose à l'implantation du C. albicans.

Toutefois ces deux antifongiques ne peuvent éviter la dégradation de la flore microbienne de l'intestin lorsqu'on les administre en même temps que les antibiotiques à large spectre.

Dans ce domaine, il semble bien que les ferments lactiques constituent le traitement de choix. Utilisant une préparation lyophilisée de L. acidophilus, nous avons constaté un effet protecteur remarquable sur la flore bactérienne de l'intestin, ce qui constitue à notre avis un facteur essentiel dans le traitement de la Moniliase. En effet, le C. albicans ne réussit à s'implanter et à proliférer que lorsque l'antagonisme naturel provoqué par la flore fécale vient à s'estomper.

Dans une dernière série d'essais, nous avons étudié le pouvoir curatif d'une association Antifongique-Lactobacilles. Une véritable synergie confère à cette association une valeur thérapeutique élevée. L'agent pathogène, rapidement chassé de l'intestin fait place à une flore riche et variée dont la reconstitution s'opère en quelques jours, grâce aux ferments lactiques.

Une conclusion pratique découle de ces diverses expériences ; lorsque le clinicien doit instaurer une antibiothérapie intensive, per os, la prudence lui recommande d'instituer parallèlement un traitement préventif antifongique. On ne saurait trop conseiller, en ce cas, l'association Fongicide-Lactobacilles, qui doit permettre d'éviter la plupart des incidents et des accidents imputés actuellement aux antibiotiques.

Vu : Le Doyen : R. SIGALAS.

Vu : Le Président du Jury
MASQUELIER.

Vu et permis d'imprimer,
Bordeaux, le 12 juillet 1957.
Le Recteur :
E. DELAGE.

BIBLIOGRAPHIE

1 Albers (D.D.). — *J. Urol.* 1953, *69*, 32.

2. Bakerspigel (A.). — *J. Infect. Dis.* 1954, *94*, 141.

3. Balex (A.). — *Conc. Méd.* 1954, 1723.

4. Beck (O.), Lacy (H.). — *Texas Rep. Biol. a Med.* 1951, *9*, 395.

5. Beemer (A.M.), Pryce (D.M.), Riddell (R.W.). — *J. Pathol. Bacteriol. G.B.*, 1954, *68*, 359.

6. Beijerink. — *Archives des Sciences exact. et nat.* 1889, *3*, 367.

7. Benham (R.W.). — *J. Infect. Dis.* 1931, *49*, 183.

8. Bernard (J.), Mathe (G.), Drouhet (E.). — *Le Sang*, 1955, *26*, 490.

9. Bickel (G.). — *Conc. Méd.* 1954, *21*, 2085.

10. Bickel (G.), Barazzone (J.), Engel (E.), Falbriard (A.), Greder (G.), Rentchnick (P.), Secretan (P.). — *Rev Méd. Suisse Romande*, 1953, n° 10, 817.

11. Boquien (Y.), Alliot (G.). — *Journ. gastro-entérol. français*, 1955, 132.

12. Brisou (J.). — *Presse Méd.* 1953, *61*, 748.

13. Brown (R.), Hazen (E.L.), Mason (A.). — *Sciences*, 1953, *117*, 609.

14. Brun (R.), Mozer (J.-J.), Jadassohn (W.). — *Schweiz. Méd. Wschr.*, 1953, *83*, 135.

15. Buttiaux (R.), Tacquet (A.), Gaudier (B.). — *Journ. gastro-entérol. français*, 1955, 99.

16. Campbell, Saslow, Howell, Kipkie. — Auteurs cités par Saez (H.E.) dans *Presse Méd.* 1957, 65, n° 3, 48.

17. Carrere (L.), Roux (J.). — *Ann. Inst. Pasteur,* 1952, 82 n° 5, 603.

18. Cornet (A.). — *Journ. gastro-entérol français,* 1955, 117

19. Crecellius (H.G.), Rettger (L.F.). — *J. Bact.* 1943, *46,* 1.

20. D'Agata (A.). — *Riforma Medica,* 1954, *68,* 757.

21. Debre (R.), Mozziconacci (P.), Drouhet (E.), Drouhet (V.), Hoppeler (A.). — *Ann. Paediatrici,* 1955, 184, n° 3, 129.

22. Diddens (H.A.), Lodder (J.). — *II Teil,* 2° *Halfte,* Amsterdam, 1942, *12,* 511.

23. Dogliotti (M.). — *Presse Méd.* 1955, *63,* 1714.

24. Drouhet (E.). — *Presse Méd.* 1955, *63,* 620.

25. Drouhet (E.). — *Ann. Inst. Pasteur,* 1955, *88,* 298.

26. Drouhet (E.), Couteau (M.). — *Ann. Inst. Pasteur* 1954, *86,* 602.

27. Duchesnay (G.). — *Thérapie,* 1953, *8,* 632.

28. Escherich (T.). — *Fortschr Méd.* 1885, *3,* 515.

29. Foley (G.E.), Winter (W.D.). — *J. Inf. Dis.* 1949, *85,* 268.

30. Gausenitz (P.L.), Jones (F.S.), Worley (G.). — *Ann. J. Clin. Path.* 1951, *27,* 47.

31. Georg (L.K.), Ajello (L.), Papageorge (C.). — *J. Labor. Clin. Med.* 1954, *44,* 422.

32. Glick (H.U.), Rein (C.R.). — *Arch. Dermatol. U.S.A.* 1956, 74, n° 6, 678.

33. Graciansky (P. de). — *Journ. Mycol. Med.,* décembre 1956.

34. Graciansky (P. de), Delaporte (J.). — 1 vol. Masson et Cie, édit., Paris, 1956.

35. Harris (H.C.). — *J.A.M.A.* 1950, *142,* 161.

36. Hazen (E.L.), Brown (R.). — *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 1951, 76, 93.

37. Hazen (E.L.), Brown (R.), Mason (A.). — *Antibiotics and chimiotherapy,* 1953, *3,* 1.125.

38. Hucker (G.J.), Konn (H.J.). — *N.Y.S. Agr. Exp. Sta. Tech. Bul.* 1923, 129.

39. Huppert (M.), Cazin (J.). — *J. Bacteriol. U.S.A.* 1955, *70*, 435.

40. Jacob (J.), Schweinburg (F.B.), Rutenburg (A.M.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1951, *78*, 121.

41. Jadassohn (W.), Fierz (H.E.). — *Experientia*, 1945, *I*, 1.

42. Jadassohn (W.), Pfanner (E.), Hausmann (W.). — *Schweiz. Med. Wschr.* 1947, *77*, 987.

43. Justin-Besançon (L.), Cornet (A.), Barbier (P.), Meurgue (G.) — *Journ. Mycol. Méd.*, décembre 1956.

44. Kimmig (J.). — *Hamburger Argteblatt*, 1954, 162.

45. Kligman (A.M.). — *J. Invest. Dermat.* 1950, *14*, 173.

46. Kligman (A.M.). — *J.A.M.A.* 1952, *149*, 979.

47. Langeron (M.). — 1 vol. Masson et Cie, édit. 1945, p. 228.

48. Langeron (M.), Guerra (P.). — *Ann. parasit.* 1938, *16*, 38-84, 162-179, 429-476, 481-525. 1939, *17*, 257-260, 447-469, 580-589. 1941, *18*, 95-111.

49. Langeron (M.), Vanbreuseghem (R.). — 1 vol. Masson et Cie, Paris, 1952.

50. Leach (B.E.), Ford (J.H.), Wiffen (A.J.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1947, *69*, 474.

51. Lefort (P.). — *Bull. Méd.* 1955, n° 10, 301.

52. Lelong (M.), Alison (F.), Le-Tan-Dao-Van-Ty, Desmonts (G.), Cabanes (J.). — *Ann. Méd.* 1953, *54*, 5.

53. Lipnick (M.J.), Kligman (A.M.), Strauss (R.). — *J. Invest. Dermat.* 1952, *18*, 247.

54. Lodder (J.), Kreger Van Rij (N.J.W.). — A tasconomic study. 1 vol. North Holland Publishing Company, Amsterdam, 1952.

55. Luteran. — Auteur cité par Rimbaud (P.) et Rioux (J.A.). *Presse Méd.* 1955, *63*, 701.

56. Mac Govern (J.J.), Parrot (R.M.), Emmons (C.W.), Ross (S.), Burke (F.G.), Rice (E.C.). — *New England J. Méd.* Boston, 1953, *248*, 397.

57. Mac Vay (L.V.), Sprunt (D.H.). — *Proc. Soc. expér. Biol. Méd.* 1951, *78*, 759.

58. Marcelou (V.), Segretain (G.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1954, *87*, 229.

59. Marcus (S.), Nielson (B.D.), Rambo (F.R.). — *Journ. of bacteriology*. 1956, *72*, n° 4, 473.

60. Maury (F.). — *Thèse*, Montpellier, 1952.

61. Metzger (W.I.). .. *Antibiot. and chimioht*. 1952, *2*, 91.

62. Metzger (W.I.), Di Lorenzo (J.C.). — *J.A.M.A.*, mai 1952.

63. Metzger (W.I.), Wright (L.I.), Di Lorenzo (J.C.). — *J.A.M.A.* 1954, *155*, 352.

64. Moore (M.). — *J. Lab. Clin. Méd.* 1951, *37*, 703.

65. Mountain (D.C.), Krumenacher (F.P.). — *Amer. J. Med. Sc.*, 1953, *225*, 274.

66. Mozer (J.J.). — *Médecine et hygiène*, 30 mars 1956, p. 123.

67. Mozer (J.J.), Secretan (P.), Fleury (C.). — *Helv. Med. Acta*, 1952, *19*, 495.

68. Munoz (J.), Geister (R.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1950, *75*, 367.

69. Muratore (R.). — *Conc. Méd.* 1954, *76*, 1899.

70. Oblath (R.W.), Donath (D.M.), Johnstone (H.G.), Kerr (W.J.). — *Ann. Int. Méd.* 1951, *35*, 97.

71. Paine (T.F.). — Antibiotics and chimiotherapy. 1952, *2*, 653.

72. Pappenfort (R.B.), Shnall (E.S.). — *Ann. Intern. Méd.* 1951, *88*, 729.

73. Pavlatou (M.), Marcelou (U.). — *Ann. Inst. Pasteur* 1956, *91*, 410.

74. Phaff (H.J.), Knapp (E.P.). — *Antonie Van Leeuw*. 1956, *22*, 118.

75. Philips (G.B.), Hannel (E.). — *J. Bact.* 1950, *60*, 104.

76. Plichet (A.). — *Presse Médicale*, 1952, *60*, 1209.

77. Ravina (A.), Eloy (Ph.). — *Presse Méd.* 1955, *63*, 991.

78. Rentchnick (P.). — *Med. Hyg.* (Genève) 1952, *10*, 359.

79. Rimbaud (P.), Rioux (J.A.). — *Presse Méd.* 1955, *63*, 701.

80. Rimbaud (P.), Harant (H.), Rioux (J.A.), Caron (J.). — *Presse Méd.* 1957, *65*, n° 22, 503.

81. Rostenberg, Webster. — *J.A.M.A.*, 1954, *154*, 221.

82. Saez (H.E.). — *Presse Méd.* 1957, *65*, n° 3, 47.

83. Seeliger (H.). — *Z. Hyg. Infektkr.* 1955, *141*, 488.

84. Seligmann (E.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Méd.* 1952, *79*, 481.

85. Sharp (J.L.). — *Lancet*, 1954, *266*, 390.

86. Siegal. — Auteur cité par Mozer (J.J.) dans *Méd. et hyg.* 1956, p. 123.

87. Smith (D.T.). — *Ann. Int. Méd.* 1952, *37*, 1135.

88. Soto (O.B.). — *Puerto Rico journ. of pub. health and trop. méd.* 1949-1950, *25*, 96.

89. Sternberg (T.H.), Tarbet (J.E.), Newcomber (V.D.), Huddleson (H.G.), Weir (R.H.), Wright (E.T.), Egeberg (R.O.). — *Antibiotics annual*, 1953-1954, p. 199.

90. Talice (R.). — Ann. Parasit. 1930, *8*, 394.

91. Tomaszewski (T.). — *Brit. Méd. J.* 1951, *7*, 389.

92. Treguer (J.). — *Thèse* Bordeaux, 1956.

93. Vanbreuseghem (R.), Balsacq (J.), Bertrand. — *Ann. Soc. belge Méd. trop.* 1952, *32*, 513.

94. Vieu (J.F.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, *89*, 250.

95. Watrin (J.), Beurey (J.), Mougeolle (J.). — *Vie Méd.* 1955, *36*, 743.

96. Weld (J.T.). — *Arch. Derm. and Syph.* 1952, *66*, 691.

97. Wickerham (L.J.), Burton (K.M.). — *J. Bactér.* 1948, *56*, 363.

98. Womack (C.R.), Jackson (G.G.), Gocke (T.M.), Kass (E.M.), Haight (T.H.), Finland (M.). — *Arch. Int. Méd.* 1952, *89*, 240.

99. Woods (J.W), Manning (I.H.), Patterson (C.N.). — *Journ. Amer. Med. Assoc.* 1951, *145*, 207.

100. Young (G.), Krasner (R.I.), Yudkofsky (P.L.). — *Journal of bacteriol.* 1956, *72*, N° 4-525.

101. Zimmerman (L.E.). — *Arch. Pathol.* 1950, *50*, 591.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

Avant-Propos 5

Introduction 7

HISTORIQUE

Chapitre premier

La Moniliase intestinale secondaire à l'antibiothérapie.. 11

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre II

La Moniliase expérimentale du cobaye 31

Chapitre III

Etude de quelques antifongiques 41

Chapitre IV

Etude de l'action des ferments lactiques 63

Chapitre V

Essai de l'association lactobacilles antifongiques 89

Conclusions générales 93

Bibliographie 95